

**Vergleichende Prüfung
der Methylenblauprobe, der Resazurinprobe,
des Nitrittests und der Glukosegärprobe
in der klinischen Pansensaftuntersuchung
bei Rind und Schaf**

Hermann Wenzel

1977

Aus der Medizinischen Tierklinik
(Lehrstuhl für Innere Krankheiten der Klauentiere)
des Fachbereichs Tiermedizin der Universität München
Vorstand: Prof. Dr. G. Dirksen

Vergleichende Prüfung
der Methylenblauprobe, der Resazurinprobe, des Nitrittests
und der Glukosegärprobe
in der klinischen Pansensaftuntersuchung
bei Rind und Schaf

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der tiermedizinischen Doktorwürde
des Fachbereichs Tiermedizin der Ludwig-Maximilians-Universität
München

von
Hermann Wenzel
aus
Pappenheim

München 1977

Gedruckt mit Genehmigung des Fachbereichs
Tiermedizin der Universität
München



Dekan: Prof. Dr. B. Vollmerhaus
Referent: Prof. Dr. G. Dirksen
Korreferent: Prof. Dr. D. Giesecke

Tag der Promotion: 29. Juli 1977

INHALTSVERZEICHNIS

	Seite
Einleitung	7
Schrifttum	9
Wesen und Funktion der Redoxsysteme	9
Der rH-Wert nach CLARK	10
Redoxpotentiale im Pansen gesunder Wiederkäuer	11
Redoxpotentiale im Pansen von Wiederkäuern mit unterschiedlichen Störungen der Vor-magenverdauung	13
Die Redoxfarbstoffe Methylenblau und Re-sazurin, ihre chemischen und physikalischen Eigenschaften und ihre Anwendung im biolo-gischen Bereich	14
Die bisherige Anwendung von Reduktions-proben in der klinischen Pansensaftunter-suchung	16
a) die Nitratreduktionsprobe	16
b) der Nitrittest	18
c) Reduktionsproben mit den Indika-torfarbstoffen Methylenblau, Re-sazurin, Thionin und Tetrazolium-chlorid	19
Eigene Untersuchungen	
Material und Methode	23
Versuchstiere	23

Die Gewinnung des Pansensaftes, seine Untersuchung und Beurteilung	Seite 23
Auswertung der Ergebnisse	26
Versuchsanordnung	26

E r g e b n i s s e

Vorversuche:

Prüfung der Reduktionsproben und der Glukosegärprobe an verschiedenen Fraktionen von Pansensaft des Rindes	28
---	----

Senkung des pH-Wertes von aktivem Pansensaft des Rindes in vitro mit Hilfe von Milchsäure	29
--	----

Anhebung des pH-Wertes von aktivem Pansensaft des Rindes in vitro mit Hilfe von Natriumbikarbonat	33
--	----

Hauptversuche:

Vergleich der Reduktionsproben mit Methylenblau, Resazurin und Nitrit mit der Glukosegärprobe	37
---	----

Verlauf der Reduktionsproben und der Glukosegärprobe bei Inaktivierung der Vormagenflora durch Strohfütterung beim Schaf	37
--	----

Vergleich der bei Strohfütterung und bei Heufütterung an Schafen mit den Reduktionsproben und der Glukosegärprobe gewonnenen Ergebnisse	47
---	----

	Seite
Verlauf der Reduktionsproben und der Glukosegärprobe bei Inaktivierung der Vormagenflora durch Strohfütterung beim Rind	51

Vergleich der Reduktionsproben und der Glukosegärprobe bei Reaktivierung der Vormagenflora durch Zulage von Soja- oder Haferschrot	67
--	----

Vergleich der Reduktionsproben und der Glukosegärprobe bei der Untersuchung des Pansensaftes von Rindern mit hochaktivem Vormageninhalt	69
---	----

a) Beziehung zwischen den Reduktionszeiten für Methylenblau und Resazurin	69
---	----

b) Beziehung zwischen der Methylenblauprobe und der Nitritabbauzeit	71
---	----

c) Beziehung zwischen der Methylenblauprobe und der bei der Glukosegärprobe gebildeten Gasmenge	73
---	----

Vergleich der Reduktionszeiten für Methylenblau und Resazurin bei unterschiedlichen pH-Werten von frisch entnommenem Pansensaft des Rindes	76
--	----

Verlauf der Reduktionsproben und der Glukosegärprobe bei der Untersuchung des Pansensaftes von Rindern mit herabgesetzter Aktivität des Vormageninhaltes	77
--	----

Besprechung der Ergebnisse	79
----------------------------	----

	Seite
Zusammenfassung	84
Schrifttumsverzeichnis	89
Lebenslauf	96

EINLEITUNG

Die Wiederkäuer unterscheiden sich von den anderen Haustierarten vor allem durch ihr hochspezialisiertes Vormagensystem. Optimale Mast- und Milchleistungen hängen in erster Linie von der normalen Funktion des Magendarmtraktes ab. Da primär am Verdauungsapparat angreifende Leiden oder schwerwiegende Krankheiten anderweitiger Lokalisation sekundär die Vormagentätigkeit beeinflussen und damit die spezifischen Leistungen der Vormagenmikroflora und -fauna hemmen, kommt der Erkennung von Verdauungsstörungen beim Wiederkäuer eine große diagnostische und therapeutische Bedeutung zu (DIRKSEN, 1970).

Untersuchungen von HOF LUND (1959) führten zu der Erkenntnis, daß bestimmte Vormagenerkrankungen ihre Ursache in krankhaften Verschiebungen der Pansenflora und -fauna haben. Zur Erkennung dieser primär alimentären Indigestionen wurde von HOLTENIUS, BJÖRCK und HOF LUND (1959) die systematische Untersuchung abgesaugter Pansensaftproben in die klinische Diagnostik der Vormagenkrankheiten eingeführt.

Im Rahmen dieser Entwicklung nahm BROBERG (1957, 1958) elektrometrische Untersuchungen des Redoxpotentials im Panseninhalt gesunder und vormagenkranker Rinder vor. Diese Messungen hatten den Nachteil, daß sie einen relativ großen apparativen Aufwand erforderten und somit als diagnostisches Hilfsmittel unter Praxisbedingungen wenig geeignet waren. DIRKSEN führte 1969 die Methylenblauprobe in die klinische Pansensaftuntersuchung ein, mit der dem praktizierenden Tierarzt ein einfacher Schnelltest zur Erkennung der Aktivität der Panseningesta zur Verfügung steht, der jederzeit unter Praxisbedingungen durchgeführt werden kann.

HOFIREK und Mitarbeiter (1970 - 1973) sowie M. RAKOW (1975) prüften außer Methylenblau weitere Redoxfarbstoffe auf ihre Verwendbarkeit als Aktivitätsindikatoren.

Mir wurde die Aufgabe übertragen, die Methylenblauprobe mit der Resazurin- und der Nitritreduktionsprobe unter verschiedenen Fütterungsbedingungen zu vergleichen und die Frage zu klären, ob zwischen der Reduktionsaktivität und der bei der Glukosegärprobe gebildeten Gasmenge eine Beziehung besteht, die aus dem Ausfall der Methylenblauprobe auf die Gasbildung schließen läßt.

SCHRIFTTUM

Wesen und Funktion der Redoxsysteme

Unter einer Oxydation versteht man ganz allgemein die Abgabe von Elektronen, unter einer Reduktion eine Elektronenaufnahme. Bei einer chemischen Reaktion kann es keine Oxydation ohne gleichzeitige Reduktion geben:



Hier wird das Zink oxydiert ($\text{Zn} \longrightarrow \text{Zn}^{++} + 2\text{e}^-$), die dabei frei werdenden Elektronen werden vom Kupfer aufgenommen ($\text{Cu}^{++} + 2\text{e}^- \longrightarrow \text{Cu}$), es wird reduziert.

Man nennt ein entsprechendes Elektronen- abgebendes und -aufnehmendes System auch Reduktions-Oxydations-System oder abgekürzt Redoxsystem (HOLLEMAN - WIBERG, 1976).

Die Tatsache, daß Zink an Kupferionen Elektronen abzugeben imstande ist, daß also zwischen beiden Systemen ein elektrischer Strom fließt, zeigt, daß eine meßbare Potentialdifferenz besteht. Um Spannungsvergleiche zwischen verschiedenen Stoffen zu ermöglichen, wurde das Potential der Wasserstoffelektrode willkürlich als Nullpunkt der Redoxskala festgelegt. Die darauf bezogenen Potentiale werden als Normalpotentiale E_0 bezeichnet. Je negativer dieses Normalpotential eines Stoffes ist, um so stärker ist seine reduzierende Wirkung, je positiver E_0 , um so stärker seine oxydierende Kraft. Da eine gegebene Substanz nicht von jeder anderen Elektronen aufzunehmen oder an jeden anderen Stoff abzugeben vermag, gibt es keine absoluten Oxydations- oder Reduktionsmittel. Ein Reduktionsmittel kann nur dann an ein anderes Element Elektronen abgeben, wenn dieses in der elektrochemischen Spannungsreihe unter ihm steht, damit ein positiveres Normalpotential hat. So kann im obigen Beispiel das Zink ($E_0 = -763 \text{ mV}$) gegenüber dem Kupfer ($E_0 = 337 \text{ mV}$) als Reduktions-

mittel auftreten, jedem in der Spannungsreihe höher stehenden Element, z.B. dem Mangan ($E_0 = -1180 \text{ mV}$) könnte es als Oxydationsmittel dienen (HOLLEMAN - WIBERG, 1976).

E_0 bezieht sich immer auf pH 0 und die gleiche Konzentration von reduziertem und oxydiertem Anteil des Stoffes in der Lösung. Mißt man die Potentialdifferenz bei beliebigem pH, so wird der Wert mit E_h bezeichnet (GIESECKE, 1973). Ändert sich die Konzentration in der Lösung, so ergibt sich nach der NERNST'schen Gleichung:

$$E = E_0 + \frac{0,06}{n} \log \frac{c_{\text{ox}}}{c_{\text{red}}}$$

wobei n der Anzahl der umgesetzten Elektronen und c dem Konzentrationsverhältnis zwischen oxydierter und reduzierter Stufe des Stoffes entspricht. Setzt man $c = 1$ in die obige Gleichung ein, so ergibt sich $E = E_0$, was der Definition des Normalpotentials entspricht (BISHOP, 1972).

Da bei pH 0 die Enzyme inaktiv sind, rechnet man in der Biochemie mit E'_0 , welches sich auf einen pH-Wert von 7 bezieht. Die Wasserstoffelektrode hat bei pH 7 gegenüber der n-Wasserstoffelektrode eine Potentialdifferenz von $-0,42 \text{ V}$ (KARLSON, 1969). Das Redoxpotential wird gewöhnlich nicht gegen die Normalwasserstoffelektrode gemessen, sondern gegen eine n-Kalomelektrode. Die dabei gewonnenen Werte sind um 250 mV negativer als E_h (NETTER, 1951):

$$E_h = E_{\text{kal}} + 250 \text{ mV}$$

Der rH-Wert nach CLARK

Von praktischer Bedeutung ist die Abhängigkeit des Redoxpotentials vom pH-Wert der Redoxlösung. E_h wird um etwa 60 mV größer, wenn der pH um eine Einheit erniedrigt wird. Zur Charakterisierung der biologischen Redoxverhältnisse wird

der rH-Wert nach CLARK benutzt. Er stellt ein pH-unabhängiges Redoxmaß dar (NETTER, 1951):

$$rH = \frac{E_h + pH\delta}{28,5}$$

Dabei entspricht der rH-Wert analog zum pH dem negativen Logarithmus des Wasserstoffdruckes. So wird mit zunehmendem pH-Wert die Konzentration der Wasserstoffionen und damit auch der Wasserstoffdruck kleiner, d.h. der rH-Wert steigt an. Die rH-Skala reicht von 0 - 42. Stoffe mit einem rH von 0 - 17 haben reduzierende, mit einem rH über 25 oxydierende Eigenschaften (NEBE, 1974).

Redoxpotentiale im Pansen gesunder Wiederkäuer

Das Redoxpotential im Pansen der Wiederkäuer wird durch die fermentative Tätigkeit der mikrobiellen Flora (BROBERG, 1957c), ein geringer Anteil auch durch pflanzliche Enzymsysteme gebildet und aufrecht erhalten (HOLTENIUS, 1957). Es kann daher als Maßstab der Keimaktivität angesehen werden (MISHRA et al., 1970) und ist Grundvoraussetzung für die Funktionsfähigkeit des Vormagensystems (PAVEL, 1969). Zahlreiche Messungen verschiedener Autoren haben gezeigt, daß im Panseninhalt gesunder Tiere ein Redoxpotential zwischen -300 und -450 mV vorliegt, bezogen auf die Platin-Kalomel-Elektrode.

So fand MARSTON (1948) bei Zellulosevergärung in vitro ein Potential von -380 ± 30 mV. Die untersuchten Umsetzungen waren an Potentialwerte in diesem Bereich gebunden. BROBERG (1957 b) führte mit Panseninhalt gesunder Tiere Messungen in vitro durch. Das Potentialniveau lag in guter Übereinstimmung mit den von MARSTON ermittelten Werten bei $-400 \pm 15-30$ mV. Weiterhin bestimmte er den rH-Wert nach CLARK, um die bei verschiedenen pH-Werten gemessenen Potentiale zahlenmäßig vergleichen zu können. Bei normaler Füt-

lerung ergab sich ein rH von etwa 8. Alleinige Strohgabe sowie Überfütterung mit Eiweiß änderten den rH-Wert nicht. Dagegen bewirkte Kraftfutterzulage 20 -30 Minuten nach der Fütterung ein vorübergehendes Absinken auf Werte um 6,9, zweitägiges Hungern einen Anstieg auf rH 11,2. Stufenweises Ansäuern des Pansensaftes brachte ein konstantes rH-Niveau, so lange der pH größer als 5 war. Wurde dieser kritische Punkt unterschritten, so stieg das Redoxpotential stark an. Bei unausgewogen ernährten Tieren war der Panseninhalt nicht in der Lage, ein konstantes Potential aufrecht zu erhalten, der rH wurde bei Ansäuerung kontinuierlich größer.

In weiteren Arbeiten untersuchte BROBERG (1957 a, d) den Einfluß von Luftsauerstoff auf das Redoxpotential im Pansen. Zu diesem Zweck wurden Messungen in verschiedenen Abständen von der Oberfläche der Proben durchgeführt. Während ab einer Tiefe von 2 cm die erwarteten Werte gefunden werden konnten, zeigten sich oberhalb positivere Potentiale. Einleiten von Sauerstoff führte zu einem vorübergehenden Potentialanstieg, dessen Größe der zugeführten Gasmenge proportional war. Daraus schließt BROBERG auf ein aktives Vermögen des Panseninhaltes, Sauerstoff zu verbrauchen. Durch in vivo an Schafen ausgeführte Messungen konnten die in vitro ermittelten Potentialwerte bestätigt werden (BROBERG, 1958).

SMITH und HUNGATE (1958) bestimmten im Pansen von Schafen ein Potential von -335 bis -346 mV. Diese Werte erwiesen sich für das Wachstum der isolierten Mikroorganismen als notwendig.

BALDWIN und EMERY (1960) führten nur 9% der reduzierenden Kräfte im Pansen auf die bakterielle Population zurück. Nach ihren Untersuchungen sollen zu 85% die in den Vormägen enthaltenen Futterpartikel für das Potential verantwortlich sein; es betrug -390 mV.

KAUFMANN untersuchte 1959 den Einfluß unterschiedlicher Ernährung, der aufgenommenen Futter- und Wassermenge sowie der Gesamtkeimzahl auf das Redoxpotential. Die ermittelten Werte lagen zwischen -300 und -450 mV. Bei verschiedenen Grundfut-

termitteln zeigten sich nur geringe Verschiebungen. Je größer der Rohfaseranteil im Futter wurde, desto negativer wurde das Redoxpotential, es entstand mehr Wasserstoff, bzw. es wurden mehr reduzierende Substanzen gebildet; die Vormagenflora wurde mehr anaerob. Steigende Gaben von leicht verdaulichen Kohlenhydraten oder Zulage von Eiweiß zeigten das umgekehrte Ergebnis. Größere Futteraufnahme verstärkte das Potential, während die Wasseraufnahme ohne Einfluß war. Die Keimzahlen waren bei dem Tier mit dem niedrigsten Potential am größten.

Die gleiche Beziehung zwischen dem Redoxpotential im Pansen und dem Rohfasergehalt des Futters ermittelten BROBERG (1957 b - d) und MISHRA et al. (1970).

ABE und KUMENO (1973) fanden bei der Vergärung im künstlichen Pansen Potentialwerte zwischen -350 und -400 mV ($E_h = -100$ bis -150 mV), wobei diese bei verschiedenen zugeführten Substraten außerordentlich konstant blieben.

Redoxpotentiale im Pansen von Wiederkäuern mit unterschiedlichen Störungen der Vormagenverdauung

Verschiedene Autoren haben Störungen der Vormagenverdauung untersucht (HUNGATE et al., 1952, HOF LUND, 1959, DIRKSEN, 1965, JUHASZ und SZEGEDI, 1967, 1976, DUNLOP, 1972 u.a.). Dabei wurden makroskopische, mikroskopische und biochemische Veränderungen des Panseninhaltes erfaßt.

Potentiometrische Messungen an erkrankten Tieren wurden nur von BROBERG (1957 c) durchgeführt. Patienten mit länger andauernder Inappetenz zeigten im unbehandelten Pansensaft erhöhte rH-Werte (rH 12 - 15). Schrittweise Ansäuerung brachte den gleichen Verlauf der pH/rH-Kurve wie bei nährstoffarm gefütterten gesunden Tieren. Bei Pansenazidose durch akutes Überfressen mit Getreide stieg der rH-Wert bei pH unter 5 in gleicher Weise an wie bei künstlicher Ansäuerung. BROBERG hielt für diese Erhöhung den veränderten pH-Wert für verantwortlich, bei dem die bakterielle Tätigkeit gehemmt ist und

die Enzymsysteme zerstört werden, die das Redoxpotential regulieren.

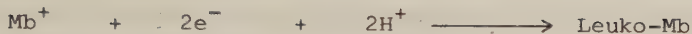
Gebälzte Patienten zeigten sehr unterschiedliche Redoxpotentiale. Da diese im allgemeinen sehr stabil sind, müssen diese Verschiebungen sehr bedeutsam sein. Dies deutet auf eine uneinheitliche Ätiologie der Tympanie hin.

MISHRA et al. (1970) prüften den Einfluß von Ernährung, Umgebungstemperatur und Luftfeuchtigkeit auf die Vormagenverdauung von Kühen. Zu diesem Zweck wurden die Tiere in Klimakammern bei verschiedenen Umweltbedingungen gehalten. Bei der Fütterung wurde zwischen rauhfutterreicher und kraftfutterreicher Diät unterschieden. Dabei ergaben sich bei hoher Umgebungstemperatur und kraftfutterreicher Ration niedrigere Werte der Redoxpotentiale als bei geringerer Temperatur und rauhfutterreicher Ernährung. Die gemessenen Potentialwerte lagen mit -470 bis -540 mV verhältnismäßig niedrig.

Die Redoxfarbstoffe Methylenblau und Resazurin, ihre chemischen und physikalischen Eigenschaften und ihre Anwendung im biologischen Bereich

Methylenblau und Resazurin sind sogenannte Akzeptorfarbstoffe, die durch Reduktion in ihre farblosen Leukoformen übergeführt werden können (BISHOP, 1972). Sie zeigen durch ihren Farbumschlag ein bestimmtes Redoxpotential an. Dabei wird der Indikator um so schneller entfärbt, je größer die Potentialdifferenz zwischen seinem Umschlagspunkt und dem reduzierenden Stoff ist (HÜCKEL, 1957).

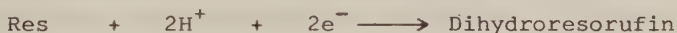
Methylenblau ist ein Farbstoff der Phenothiazinreihe. Es existiert als einwertiges Kation, wobei nicht ein einzelnes Atom, sondern das ganze Molekül Träger der positiven Ladung ist (LEMBKE, KAUFMANN und LAGONI, 1952). Dieses nimmt zwei Elektronen auf und liefert ein Anion, das nach Aufnahme zweier Protonen in das Leukomethylenblau übergeht (HÜCKEL, 1957):



Der Umschlagspunkt liegt bei einem Potential von $E_{\text{kal}} = -260 \text{ mV}$ (BISHOP, 1972).

Das Potential des Methylenblaus ändert sich bei steigendem pH nicht parallel zu dem der Wasserstoffelektrode. Bis pH 5 verringert es sich um 90 mV, zwischen pH 5 und 6,5 um 60 mV und über pH 7 um 30 mV pro pH-Einheit (HÜCKEL, 1957).

Der Oxazinabkömmling Resazurin ist ein besonders guter Wasserstoffakzeptor und wird deshalb besonders leicht reduziert. (PESCH und SIMMERT, 1929). Die Reduktion erfolgt in zwei Stufen: das blaue Resazurin wird zum roten Resorufin reduziert, dieses geht durch Aufnahme zweier Elektronen in das farblose Dihydroresorufin über (BISHOP, 1972). Dabei ist die Reduktion zum Resorufin irreversibel, während die zweite Stufe einen reversiblen Vorgang darstellt (TWIGG, 1945):



Der Farbumschlag des Resazurins erfolgt bei einem Potential von $E_{\text{kal}} = -333 \text{ mV}$ (BISHOP, 1972).

Das Potential des Systems Resorufin/Dihydroresorufin hat ebenfalls keinen pH-unabhängigen Verlauf. So vermindert es sich bis pH 6,9 um 60 mV und von pH 7 bis 9 um 90 mV pro pH-Einheit (TWIGG, 1945).

Methylenblau und Resazurin werden im biologischen Bereich hauptsächlich in der Milchuntersuchung eingesetzt. Sie dienen bei der Reduktaseprobe der Feststellung des Frischezustandes der Milch. Stark keimhaltige Milch hat ein Redoxpotential bis zu $E_{\text{kal}} = -435 \text{ mV}$ und damit stark reduzierende Eigenschaften (LERCHE, 1966). Dabei sind beide Farbstoffe in ihrer Aussage identisch (LAGONI, 1951).

In der Spermatologie findet das Methylenblau als Indikator für die Aktivität der Spermien Verwendung. Dabei ist eine

schnelle Entfärbezeit Ausdruck eines aktiven Metabolismus und damit einer hohen Sperma Vitalität (SANTOMAURO, ARAGUNDE und BARRIOLA, 1968).

Methylenblau und Resazurin können unter vergleichbaren Bedingungen von Substanzen entfärbt werden, deren Redoxpotential negativer ist als das Umschlagspotential der Farbstoffe. Da in Pansensaft ein Potential von -350 bis -450 mV vorliegt, sind beide Indikatoren zur Abschätzung der mikrobiellen Aktivität in Pansensaft geeignet.

Bisherige Anwendung von Reduktionsproben in der klinischen Pansensaftuntersuchung

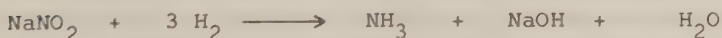
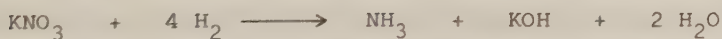
SCHÖNBEIN entdeckte im Jahre 1868, daß verschiedene Bakterienarten Nitrate zu Nitriten reduzieren können (zit. nach QUASTEL, STEPHENSON und WHETHAM, 1925). Zahlreiche aus dem Pansen von Schafen isolierte Keime (MANSSON und ANDERSSON, 1956) und Pilze (HOLTENIUS und NIELSEN, 1957) zeigten die Fähigkeit, zugeführtes Nitrit in vivo abzubauen. Nitrat ist eine natürliche anorganische Stickstoffquelle, die in vielen Pflanzen vorkommt. Wiederkäuer sind in der Lage, aus anorganischen Stickstoffverbindungen Eiweiß zu synthetisieren. Der Nitratabbau ist demnach eine physiologische Erscheinung im Pansen (WEGENER et al., 1940). Die Erforschung der Abbauewege von Nitrat beschäftigte verschiedene Autoren im Rahmen der Untersuchung der Nitrat/Nitritvergiftung der Wiederkäuer.

SAPIRO et al. (1949) bestimmten die Abbaugeschwindigkeit von Nitrat durch Panseninhalt von Schafen bei unterschiedlicher Fütterung. Die ermittelten Reduktionszeiten für 1 mg Kaliumnitrat durch 20 ml Pansensaft betrugen bei eiweißreicher Diät durchschnittlich 6,8 min, bei zellulosereicher, proteinarmer Ration 28,4 min. Die Autoren halten die Nitratbindungssprobe als zusätzliche Untersuchung der Aktivität der Pansenflora für brauchbar.

BACZYNSKY (1957) untersuchte den Einfluß der offenen und der verschlossenen Pansenfistel auf einige biochemische Reaktionen im Pansen saft von Rindern. Die ermittelten Reduktionszeiten der Nitratbindungsprobe zeigten im Durchschnitt bei einer Fistelkuh doppelt so große Werte wie bei einem Vergleichstier ohne Fistel. Die Zahl der Infusorien, die Gasbildung und die Zellulosedigestionsprobe erwiesen sich bei geschlossener Fistel bei beiden Tieren als annähernd gleich. Stand die Fistel zeitweise offen, so änderten sich alle Parameter in etwa gleichem Ausmaß.

LEWIS (1951 a) zeigte, daß die Zufuhr von Nitrat zum Panseninhalt zu einem Anstieg der Ammoniakkonzentration führt. Kurze Zeit nach intraruminaler Verabreichung fiel der Nitratspiegel steil ab. In gleichem Maße stieg die Nitritkonzentration, sie sank jedoch während der nächsten fünf Stunden langsam auf ihren ursprünglichen Wert ab. Die Ammoniakkonzentration stieg für fünf bis sieben Stunden weit über den Kontrollwert an. Sie erreichte ihr Maximum zu dem Zeitpunkt, an dem das Nitrat völlig aus dem Panseninhalt verschwunden war. Diese Untersuchungen wurden durch in vitro durchgeführte Messungen bestätigt. Die Ergebnisse zeigen, daß Nitrat im Pansen zu Ammoniak reduziert wird, Nitrit und Hydroxylamin sind bei dieser Reaktion Zwischenprodukte.

In einer weiteren Arbeit untersuchte LEWIS (1951 b) die Nitrat/Nitritreduktion im Hinblick auf den Reaktionsmechanismus. Die Panseninhaltproben wurden unter Wasserstoffatmosphäre gehalten und der Verbrauch an Wasserstoff sowie die Menge des gebildeten Ammoniaks gemessen. Die Reaktionen erfolgten in guter Übereinstimmung mit den stöchiometrischen Beziehungen:



Da Wasserstoff das Endprodukt vieler bakterieller Umsetzungen

im Pansen ist, hält LEWIS diesen für die Nitrat- und Nitritreduktion für verantwortlich. Andere geprüfte, im Pansen vorkommende Substanzen erwiesen sich nicht als Wasserstoffdonatoren. HOLTENIUS (1957) zeigte, daß in geringem Maße auch pflanzliche Enzymsysteme an der Reduktion beteiligt sind; andere Untersucher fanden in Pflanzenpigmenten weitere potentielle Wasserstoffdonatoren (BARNETT und BOWMAN, 1956). HOLTENIUS (1957) verglich die Abbauzeiten von Nitrat und Nitrit im Panseninhalt. Bei lebhafter Aktivität des Vormageninhaltes erfolgte die Nitratreduktion schneller als die von Nitrit. Erniedrigte Aktivität führte zu verzögertem Abbau beider Proben, wobei die Verzögerung der Nitritreduktion prozentual zum Ausgangswert größer war als die des Nitrats. Der Autor diskutiert drei mögliche Abbauewege des Nitrats, deren erste Stufe jeweils die Reduktion zu Nitrit ist:

1. Reduktion zu Ammoniak mit Nitrit und Hydroxylamin als Zwischenstufen.
2. Reduktion zu Hydroxylamin, dieses kann sich mit Ketosäuren zu Aminosäuren verbinden.
3. Reduktion zu Nitrit und dessen Anlagerung an Aminosäuren.

Da die mikrobiellen und enzymatischen Reaktionen im Pansen vom pH-Wert abhängig sind, wurde nach den optimalen Bedingungen für die Nitrat- und Nitritreduktion gesucht. Dabei zeigte die Nitratbindungsprobe die kürzesten Abbauzeiten bei pH 6,5 und war bei höheren und tieferen pH-Werten nur geringfügig langsamer (HOLTENIUS, 1957, LEWIS, 1951 b). Die pH-Optima der Nitritreduktion lagen bei 5,6 (LEWIS, 1951 b) und 6,5 (HOLTENIUS, 1957). Schon kleine Abweichungen von diesen Werten ergaben verzögerten Abbau. Die Nitritreduktion scheint sich besser als die mit Nitrat für die klinische Pansensaftuntersuchung zu eignen, da schon aus kleinen Änderungen der physiologischen Bedingungen deutlich verlängerte Abbauzeiten resultieren (HOLTENIUS, 1957).

Die Normalwerte der Nitritprobe für die Reduktion von 0,2 ml 0,025%igen Natriumnitrits durch 10 ml Pansensaft liegen bei 5 - 10 Minuten. Bei herabgesetzter Aktivität der Pansenflora dauert es 1 - 2 Stunden, ehe das Nitrit verschwunden ist. Bei pathologischen Zuständen, z.B. bei Blähsucht, kann die Reduktion nach sehr kurzer Zeit beendet sein (HOLTENIUS, BJÖRCK und HOFLUND, 1959), oder sie liefert stark verzögerte Werte, z.B. bei Azidose (DIRKSEN, 1965).

Die aus der Milchuntersuchung bekannte Reduktionsprobe mit Methylenblau wurde von DIRKSEN (1969) in die klinische Pansensaftuntersuchung eingeführt. Zwanzig Milliliter Pansensaft werden zu 1 ml einer 0,03%igen, wässrigen Methylenblaulösung in ein Reagenzglas gegeben, durch ein- bis zweimaliges Stürzen des verschlossenen Glases gemischt und die Zeit bis zur vollständigen Entfärbung gemessen. Ein Reagenzglas mit 20 ml Pansensaft dient als Kontrollprobe. Der dabei ermittelte Grenzwert für noch aktiven Pansensaft beträgt 3 min Entfärbezeit, für mäßige Aktivität 6 min; eine längere Entfärbezeit zeigt eine herabgesetzte Aktivität an.

DIRKSEN (1969) und MAHLER (1970) prüften die Methylenblauprobe unter verschiedenen Fütterungsbedingungen. Nach Verabreichung einer gemischten Ration lagen die Reduktionszeiten bei 2,5 - 3 Minuten, eine halbe Stunde nach der Fütterung zwischen 1 und 2 Minuten. Im Verlauf von 4 Stunden verlängerten sie sich kontinuierlich. Bei reiner Heufütterung stiegen die Entfärbezeiten bis zum 5. Tag auf 15 - 20 Minuten an, bei Umstellung auf Strohütterung verzögerten sie sich nach 3 Tagen auf 16 - 17 Minuten. Anschließende Zulage von Soja-schrot bewirkte einen raschen Abfall der Reduktionszeiten auf 3 - 4 Minuten, nach 2 Tagen waren die Ausgangswerte wieder erreicht.

Durch intraruminale Verabreichung steigender Dosen von Chlortetrazyklin sollte festgestellt werden, wie das Redoxpotential durch Antibiotikagaben beeinflußt wird. Niedrige Aureomycin-gaben führten zu kurzfristiger Verzögerung der Redukti-

onszeiten, die Applikation von 10 g Chlortetrazyklin ergab eine Störung der Aktivität der Vormagenflora für 2 Tage, die Methylenblauzeiten waren um etwa 90 Sekunden verzögert. Im Verlauf einer experimentell erzeugten Azidose verzögerten sich die Entfärbezeiten bis zu einem pH von 5,0 nur langsam, bei tieferen Werten ließ die Reduktionskraft des Panseninhaltes dagegen stark nach.

Zur Feststellung der Aktivität der Pansenmikroflora klinisch gesunder Rinder benutzte HOFIREK (1970) Methylenblau, Resazurin und Thionin. In Vorversuchen erwies sich eine 0,01%ige Farbstoffkonzentration und ein Mischungsverhältnis von Indikator und Pansen saft von 1 : 5 für alle Farbstoffe als am besten geeignet.

Aus den an 140 Tieren ermittelten Reduktionszeiten bei unterschiedlicher Fütterung ergaben sich folgende Durchschnittswerte:

Methylenblau	5,1	±	2,33 min
Resazurin	6,4	±	2,90 min
Thionin	4,4	±	2,20 min

Die relativ großen Standardabweichungen sind auf die unterschiedlichen Werte bei verschiedenen Rationen zurückzuführen.

Ein weiterer in der Pansen saftuntersuchung brauchbarer Indikator war das Triphenyltetrazoliumchlorid (TTC) (HOFIREK, 1971). Zur Verwendung kamen eine 0,5%ige wässrige Lösung des Farbstoffes und ein Mischungsverhältnis von 1 : 5. Das farblose TTC wird zum roten Triphenylformazan reduziert. Die Beurteilung erfolgte nach dem Grad der Verfärbung der Pansenflüssigkeit nach 15 und 30 Minuten (schwach rosa = 1, satt rosa = 2, rot = 3). Als Durchschnittswerte bei gesunden Tieren ergaben sich nach 15 Minuten 2,85 und nach 30 Minuten 3,0. JAGOS et al. (1973 c) untersuchten die Reduktionsaktivität an 120 klinisch gesunden Schafen mit Hilfe von Methylenblau, Resazurin, Thionin und TTC. Sie wandten die gleichen Mischungsverhält-

nisse und Verdünnungsstufen an wie HOFIREK (1970, 1971). Dabei ergaben sich folgende Durchschnittswerte:

Methylenblau	11,12	±	3,39 min
Resazurin	9,96	±	3,06 min
Thionin	8,78	±	2,32 min
TTC 15'	0,77	±	0,31 min
TTC 30'	1,76	±	0,71 min

In einer weiteren Arbeit prüfte HOFIREK (1972) die Reduktionskraft der Pansenflora bei künstlich erzeugter Pansenazidose.

Der pH-Wert sank innerhalb von 18 Stunden von 7,2 auf 4,5 ab. In diesem Zeitraum verzögerten sich die Reduktionszeiten von 8,5 Minuten auf 8 Stunden für Methylenblau, von 8,8 min auf 1,5 Stunden für Resazurin und von 6,7 min auf 6,4 Stunden bei Thionin. Bei TTC war nach 30 min keine Verfärbung eingetreten.

JAGOS (1973 a, b) untersuchte die Bedeutung der Aktivität der Dehydrogenasen im Pansensaft für den Reduktionsmechanismus im Pansen. Die Aktivität wurde in RA-Einheiten ausgedrückt, wobei eine RA-Einheit als eine solche Menge der Dehydrogenasen in 100 ml Pansensaft definiert wird, die in 30 Minuten 1 mg Triphenylformazan aus TTC abspaltet. Bei Pansenazidose verlief die Aktivität der Dehydrogenasen proportional zur Senkung des pH-Wertes (JAGOS, 1973 a). Die Normalwerte bei gesunden Tieren liegen bei etwa 30 RA-Einheiten. Als die aktivste Dehydrogenase im Pansensaft wurde die Glutamatdehydrogenase bestimmt (PAVEL, 1969).

M. RAKOW (1975) prüfte die Redoxfarbstoffe Resazurin, Triphenyltetrazoliumchlorid, Brillantschwarz, Safranin und Ferroin auf ihre Verwendbarkeit als Schnelltests bei der klinischen Pansensaftuntersuchung. Als am besten brauchbar erschien ihm das Resazurin, da durch die besonders deutliche rote Farbe des Resorufins exakte Zeitangaben für den Reduktionsablauf ermöglicht wurden. Die Probe sollte so ein-

gestellt werden, daß die Reduktionszeit etwa halb so lange wie die der Methylenblauprobe dauert. Eine 0,01%ige wässrige Lösung des Resazurins erfüllte diese Bedingung.

In Anlehnung an die Versuche von MAHLER (1970) verglich M. RAKOW die Resazurinreduktion mit der Methylenblauprobe. Um den Einfluß unterschiedlicher pH-Werte auf die Reduktionsproben zu prüfen, wurde der pH von aktivem Pansensaft in vitro mit Hilfe von Milchsäure gesenkt. Ab pH 5,5 erfolgte eine Zunahme der Reduktionszeiten sowohl von Methylenblau als auch von Resazurin. Anhebung des pH mit Natriumbikarbonat ergab eine Verkürzung der Methylenblauzeiten bei gleichzeitiger Verzögerung der Resazurinzeiten, so daß ab pH 7,4 das Methylenblau schneller entfärbt wurde als das Resazurin. Bei Inaktivierung der Vormagenflora durch Strohütterung, sowie bei experimentell erzeugter Pansenazidose bei Rind und Schaf wurde ein paralleler Verlauf beider Proben ermittelt. Lediglich bei 3 Proben wurden bei pH-Werten zwischen 4,9 und 5,3 abweichend kurze Entfärbezeiten der Resazurinlösung festgestellt.

Die Untersuchungen zeigten, daß das Resazurin in der geprüften Konzentration entsprechend dem Methylenblau als Schnelltest bei der Beurteilung der Aktivität der Vormagenflora geeignet ist.

Der Vergleich der Reduktionszeiten mit der bei der Glukosegärprobe gebildeten Gasmenge ergab, daß im Durchschnitt mit ansteigenden Entfärbezeiten weniger Gas gebildet wird. Die Gasbildung wies allerdings eine sehr große Schwankungsbreite auf.

EIGENE UNTERSUCHUNGEN

MATERIAL UND METHODE

Versuchstiere

Als Versuchstiere standen 2 mit permanenten Pansenfisteln versehene Kühe zur Verfügung, eine vierjährige Deutsche Schwarzbunte mit ca. 450 kg Körpergewicht und eine sechsjährige Braunviehkuh mit etwa 500 kg KGW.

Die Tiere erhielten eine gemischte Ration bestehend aus 10 kg Heu, 1 kg Getreideschrot und 2 kg DLG-Milchleistungsfutter III, die den Erhaltungsbedarf zuzüglich einer Milchleistung von 5 l pro Tier deckte.

Weiterhin wurden Versuche an zwei Merinolandschafen durchgeführt. Beide Tiere waren etwa 9 Monate alt und hatten ein Gewicht von 35 und 55 kg. Auch sie waren mit permanenten Pansenfisteln versehen.

Die Gewinnung des Pansensaftes, seine Untersuchung und Beurteilung

Die Pansensaftentnahme erfolgte immer über die Fistel mit Hilfe eines Metallrohres, das eine Länge von 50 cm und einen Durchmesser von 1 cm hatte. Am distalen Ende war es mit 12 Löchern mit je 0,5 cm Durchmesser versehen, welche die Funktion eines Siebes übernahmen. Am proximalen Ende der Sonde war ein 50 cm langer Plastikschauch befestigt, der an den Verschuß einer etwa 1 Liter fassenden Flasche führte. In dieser Flasche wurde mittels einer Luftpumpe ein Unterdruck erzeugt, durch den der Pansensaft angesaugt wurde. Die Proben wurden möglichst immer aus dem gleichen Bereich des ventralen Pansensackes abgesaugt.

Die Untersuchung des gewonnenen Pansensaftes erfolgte nach

den von HOLTENIUS, BJÖRCK und HOF LUND (1959) angegebenen Richtlinien unmittelbar nach der Entnahme, um Veränderungen, wie sie von DIRKSEN und WOLF (1963) beschrieben wurden, zu vermeiden.

Der pH-Wert wurde mit einem Glaselektroden-pH-Meter der Firma WTW gemessen.

Die Farbe wurde nach durchmischen des Pansensaftes nach folgendem Schema beurteilt:

dunkelgrün, olivgrün, grünbraun, milchiggrau, milchig-gelb, hellbraun, mittelbraun, dunkelbraun.

Der Geruch des Vormageninhaltes wurde mit aromatisch, schwach aromatisch, indifferent, fade, stechend, säuerlich und sauer angegeben.

Die Konsistenz wurde als viskös, leicht viskös, etwas wässrig und wässrig beschrieben.

Sedimentation und Flotation wurden 10 Minuten nach dem Absaugen beurteilt:

Sedimentation	Flotation
+++ verzögert	+++ sehr schnell
++- normal	++- schnell
+-- beschleunigt	+-- verzögert
--- sehr schnell	--- ausbleibend

Die Menge der Infusorien wurde unter dem Mikroskop mit Hilfe eines kurz erwärmten Pansensafttropfens auf einem Objektträger bei 100-facher Vergrößerung geschätzt. Die Protozoenzahl wurde angegeben mit:

+++ massenhaft
++- viele
+-- wenige
--- keine

Dabei wurde jeweils zwischen der Anzahl der großen, mittleren

und kleinen Infusorien unterschieden.

Vor Durchführung der Reduktionsproben wurden mit einem Teesieb die größeren Futterpartikel vom Pansensaft getrennt.

Die Methylenblauprobe wurde nach DIRKSEN (1969), MAHLER (1970), die Resazurinreduktion nach M. RAKOW (1975) durchgeführt. In ein Reagenzglas wurde 1 ml einer 0,03%igen wässrigen Methylenblaulösung bzw. einer 0,01%igen Resazurinlösung pipettiert, mit 20 ml Pansensaft vermischt und die Entfärbezeiten gemessen. Weiterhin wurde die Höhe des sich an der Oberfläche der Proben bildenden blauen bzw. roten Ringes bestimmt.

Zur Nitritreduktionsprobe (HOLTENIUS, 1957) wurden 3 Reagenzgläser mit je 10 ml Pansensaft beschickt, dazu 0,2 ml (Probe I), 0,5 ml (Probe II) und 0,7 ml (Probe III) einer 0,025-prozentigen Natriumnitritlösung gegeben und im Wasserbad auf 39 Grad gehalten. Alle 5 Minuten wurde der Inhalt jedes Röhrchens auf die Anwesenheit von Nitrit getestet. Je 2 Tropfen Reagenz I (Acid. sulfanil. 2,0, Acid. acetic. 30% ad 200 ml) und Reagenz II (a-Naphthylamin 0,6, Acid. acetic. conc. 16,0, Aqua dest. 140,0) sowie 1 Tropfen Pansensaft wurden auf einer Tüpfelplatte gemischt. Bei Anwesenheit von Nitrit trat Rotfärbung auf. Probe I wurde stets bis zum vollständigen Verschwinden des Nitrits untersucht, Probe II und Probe III maximal 1 Stunde lang.

Zur Glukosegärprobe nach QUIN (1943) wurden 10 ml Pansensaft und 0,5 ml einer 16%igen Glukoselösung in ein Gärungssaccharometer gegeben und im Brutschrank auf 39 Grad gehalten. Die Gasbildung wurde nach 30 und nach 60 Minuten abgelesen, bei der Auswertung wurden nur die nach 60 Minuten festgestellten Werte berücksichtigt.

Auswertung der Ergebnisse

Mit Hilfe mathematisch-statistischer Methoden kann ein Untersuchungsergebnis dahingehend überprüft werden, ob es nur zufällig zustande gekommen ist, oder ob es mit einer bestimmten Wahrscheinlichkeit als gesichert angesehen werden kann. Wenn der Wahrscheinlichkeitsgrad 95% übersteigt, oder wenn im umgekehrten Sinn die Irrtumswahrscheinlichkeit unter 5% liegt, dann spricht man von einem statistisch gesicherten Ergebnis (RENNER, 1970).

Mittels Korrelationsrechnung kann untersucht werden, ob zwischen zwei Merkmalen x und y einer Probe ein Zusammenhang besteht, ob bei zunehmenden x-Werten gleichzeitig die y-Werte ansteigen oder zurückgehen. Es wird der Korrelationskoeffizient r bestimmt, der einen Wert zwischen +1 und -1 aufweisen kann. Je näher r bei ± 1 liegt, um so intensiver ist der Zusammenhang zwischen beiden Merkmalen. Anhand der Freiheitsgrade ($FG = n - 2$) kann die statistische Sicherung aus einer Tabelle abgelesen werden.

Versuchsanordnung

- a) In einer Reihe von Vorversuchen sollte zunächst geprüft werden, wie sich die Reduktionsproben mit Methylenblau, Resazurin und Nitrit sowie die Glukosegärprobe bei verschiedenen pH-Werten von aktivem Pansensaft des Rindes in vitro verhalten. Dabei wurde untersucht, in wieweit die pH-Abhängigkeit der einzelnen Proben bei unphysiologisch tiefen oder hohen pH-Werten vergleichbar ist.
- b) Versuche mit einer Infusoriensuspension sollten zeigen, welchen Einfluß die Fermentationstätigkeit der Protozoen auf das Redoxpotential und das Gärvermögen ausübt.
- c) In den Hauptversuchen wurde der Verlauf der Reduktionsproben und der Glukosegärprobe bei Inaktivierung der Pansenflora durch Strohfütterung bei Rind und Schaf in An-

lehnung an die von MAHLER (1970) und M. RAKOW (1975) beschriebenen Untersuchungen durchgeführt. Dabei wurde bei der Methylenblau- und der Resazurinprobe die Breite des sich an der Oberfläche der Proben bildenden Ringes gemessen und mit den Entfärbezeiten verglichen. Durch Zulage von Soja- oder Haferschrot wurde die Reaktivierung der Vormagenflora bei Verabreichung unterschiedlicher Schrotsorten beobachtet.

- d) In an Schafen durchgeführten Untersuchungen wurde der Verlauf der Reduktionsproben und der Glukosegärprobe bei unterschiedlicher Diät (Heu- und Strohütterung) geprüft.
- e) An von klinisch gesunden Rindern entnommenem Pansensaft wurden die Beziehungen zwischen den Reduktionszeiten der Methylenblau-, Resazurin- und Nitritprobe ermittelt. Weiterhin wurde die bei der Glukosegärprobe gebildete Gasmenge mit der Entfärbezeit des Methylenblaus verglichen.
- f) Der Vergleich der bei verschiedenen pH-Werten von unbehandeltem Pansensaft gefundenen Resultate der Methylenblau- und der Resazurinprobe sollte klären, ob die in vitro beobachtete unterschiedliche pH-Abhängigkeit beider Proben ohne weiteres auf die in vivo vorliegenden Verhältnisse übertragen werden kann.
- g) An Pansensaft von Rindern, deren Vormageninhalt herabgesetzte Aktivität der Pansenflora aufwies, wurde geprüft, ob die Reduktionsproben mit Methylenblau, Resazurin und Nitrit und die Glukosegärprobe bei Störungen der Vormagenverdauung die gleichen Aussagen über den Aktivitätszustand der Pansenflora und -fauna machen.

Prüfung der Reduktionsproben und der Glukosegärprobe an verschiedenen Fraktionen von Pansensaft des Rindes.

Um festzustellen, ob die Fermentationstätigkeit der Infusorien auf die Reduktionsproben und die Glukosegärprobe einen wesentlichen Einfluß ausübt, wurden von 500 ml frisch entnommenem Pansensaft die Infusorien durch Sedimentation gewonnen und mehrmals mit physiologischer Kochsalzlösung gewaschen.

Mit dem Pansensaft, seinem weitgehend infusorienfreien Anteil und der gewonnenen Suspension aus lebenden Infusorien wurden die Reduktionsproben und die Glukosegärprobe durchgeführt.

Während Reduktionszeiten und Gasbildung der infusorienfreien Pansenflüssigkeit nur geringfügig von den Werten des frisch entnommenen Pansensaftes abwichen, war bei der Infusorionsuspension innerhalb von 3 Stunden keine nennenswerte Reduktion bzw. Gasbildung eingetreten. Diese Beobachtungen sprechen dafür, daß die Infusorien keinen Einfluß auf die Untersuchungen ausüben.

Reduktionszeiten und Gasbildung sind aus nachstehender Tabelle 1 zu entnehmen.

	Res.-Red. min	Mb.-Red. min	Nit.-Red. min, Probe I/II/III	Glukosegär- probe ml Gas/Std.
Pansensaft I	40"	1' 26	5/15/25	0,8
Überstand I	1'	2' 15	10/20/30	0,6
Inf.-Susp. I	>180'	>180'	>180'	+
Pansensaft II	1' 21	2' 23	10/25/35	0,4
Überstand II	1' 39	2' 50	10/30/40	0,3
Inf.-Susp. II	>180'	>180'	>180'	-

Tabelle 1: Prüfung der Reduktionsproben und der Glukosegärprobe an verschiedenen Fraktionen von aktivem Pansensaft des Rindes. Versuch I und II.
Res = Resazurin, Mb = Methylenblau, Nit = Nitrit

Senkung des pH-Wertes von aktivem Pansensaft des Rindes in vitro mit Hilfe von Milchsäure.

Um den Ausfall der Reduktionsproben und der Glukosegärprobe bei verschiedenen pH-Werten zu prüfen, wurde aktiver Pansensaft des Rindes mit Hilfe von Milchsäure angesäuert.

Frisch entnommener Pansensaft wurde in mehrere Portionen aufgeteilt und der pH-Wert mit 20%iger Milchsäure um jeweils 0,2 Einheiten gesenkt, so daß ein pH-Bereich von 4,8 bis 6,6 zur Verfügung stand. Die Untersuchungen wurden mit allen Proben wie gewöhnlich durchgeführt. Die einzelnen Werte sind aus Tabelle 2 und den Abbildungen 1 und 2 zu ersehen.

Die Methylenblaureduktion verkürzte sich bis zu einem pH von 5,4 bzw. 5,2 zunächst nur langsam, um dann sprunghaft anzusteigen. Die Reduktionszeiten von Resazurin verliefen weitgehend parallel, die starke Verzögerung setzte erst 0,2 bzw. 0,4 pH-Einheiten tiefer ein. Die Nitritreduktion verzögerte sich in gleicher Weise; der steile Anstieg der Reduktionszeiten erfolgte erst bei pH 5,4 bzw. 5,2. Bei der Glukosegärprobe blieb die gebildete Gasmenge bis pH 6,0 in etwa gleich groß, verringerte sich dann aber bei pH 6,0, 5,8 bzw. 5,6 schlagartig.

Aus diesen Versuchen ergibt sich, daß die Reduktionsproben mit Methylenblau, Resazurin und Nitrit sowie die Glukosegärprobe bei Senkung des pH-Wertes analog verlaufen, daß demnach für alle vier Proben eine gleichartige pH-Abhängigkeit angenommen werden kann.

Tabelle 2: Ausfall der Reduktionsproben mit Methylenblau, Resazurin und Nitrit sowie der Glukosegärprobe bei Senkung des pH-Wertes von aktivem Pansen-saft in vitro mit Hilfe von Milchsäure. 3 Ver-suche.

Versuch 1

pH-Wert	Mb.-Red. min	Res.-Red. min	min Nitrit-Red. Probe I/II/III	Glukosegär- probe ml Gas/Std.
6,6	1' 32	50"	5/10/20	1,2
6,4	1' 25	50"	5/10/15	1,2
6,2	1' 22	44"	5/10/20	1,2
6,0	1' 27	42"	5/10/30	1,2
5,8	2' 22	1' 04	5/15/55	0,6
5,6	2' 39	1' 10	5/30/60	0,5
5,4	3' 10	1' 15	5/45	0,4
5,2	4' 31	1' 32	20'	0,2
5,0	7' 12	3'	75'	+
4,8	60'	12'	120'	-

Versuch 2

6,6	1' 14	36"	5/15/25	1,1
6,4	1' 09	32"	5/10/15	1,1
6,2	1' 15	37"	5/10/15	1,1
6,0	1' 11	34"	5/10/20	1,0
5,8	1' 53	44"	5/25/35	1,0
5,6	2' 03	53"	5/30/50	0,9
5,4	2' 12	55"	10/35	0,2
5,2	2' 40	1' 04	10/45	0,2
5,0	8'	2' 39	25'	+
4,8	75'	6' 05	80'	-

Versuch 3

6,6	2' 26	1' 16	5/10/20	0,5
6,4	2' 17	1' 10	5/10/15	0,4
6,2	2' 30	1' 22	5/10/20	0,5
6,0	2' 46	1' 20	5/25/35	0,5
5,8	3' 17	1' 42	5/40	0,4
5,6	3' 43	1' 50	5/45	0,1
5,4	4'	2'	10'	0,1
5,2	6' 04	2' 20	20'	0,1
5,0	6' 54	2' 42	30'	-
4,8	54'	9' 30	90'	-

Mb = Methylenblau
Res = Resazurin

+ = nicht meßbare Gasbildung
- = keine Gasbildung

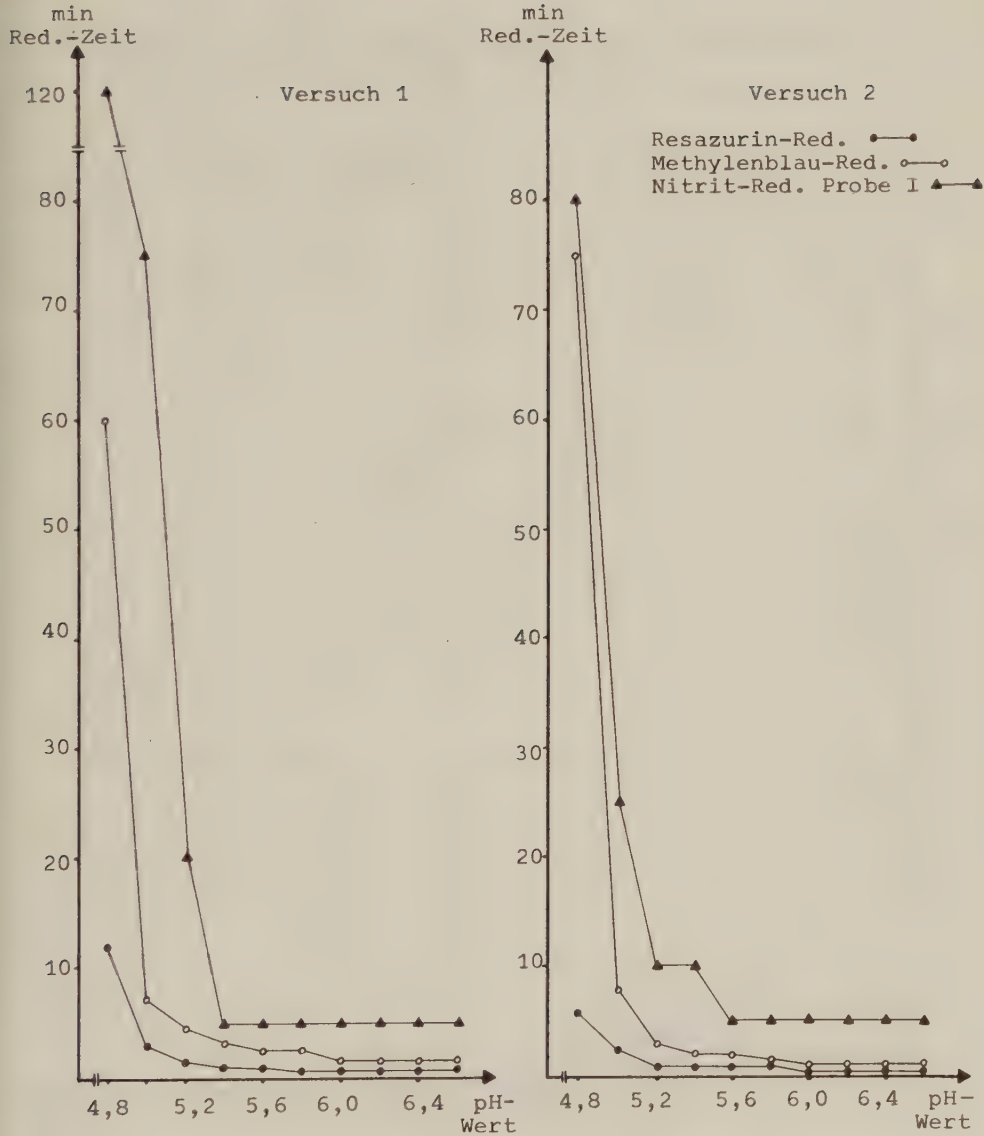


Abbildung 1: Ausfall der Reduktionsproben mit Methylenblau, Resazurin und Nitrit bei Senkung des pH-Wertes von aktivem Pansensaft in vitro mit Hilfe von Milchsäure. Versuch 1 und 2

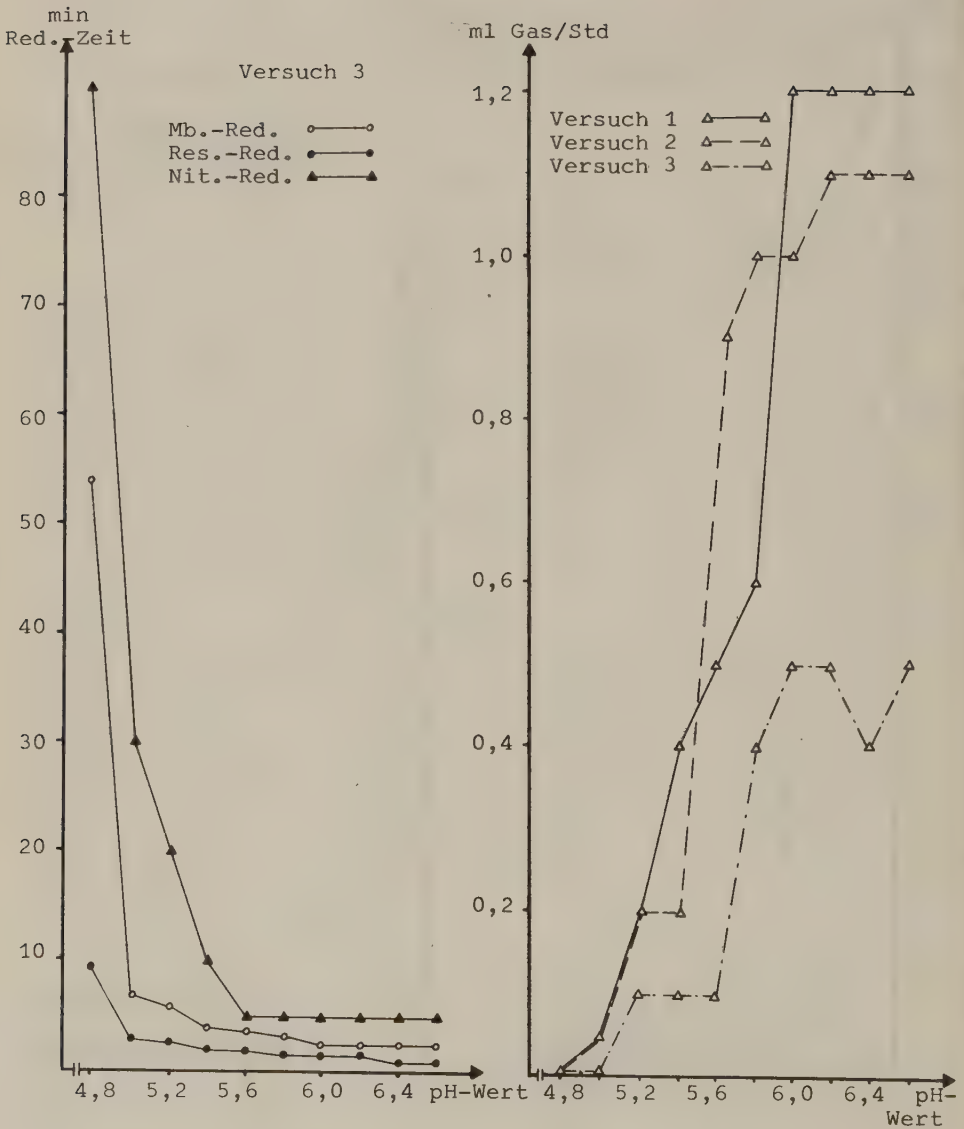


Abbildung 2: Ausfall der Reduktionsproben mit Methylenblau, Resazurin und Nitrit (Versuch 3) und der Glukosegärprobe (Versuch 1-3) bei Senkung des pH-Wertes von aktivem Pansensaft in vitro mit Hilfe von Milchsäure.

Anhebung des pH-Wertes von aktivem Pansensaft des Rindes
in vitro mit Hilfe von Natriumbikarbonat.

Zur Untersuchung des Verlaufes der Reduktionsproben und der Glukosegärprobe im alkalischen Bereich wurde frisch entnommener, hochaktiver Pansensaft vom Rind mit Hilfe einer 10-prozentigen Natriumbikarbonatlösung auf pH-Werte von 6,4 bis 8,0 eingestellt, dabei wurde der pH um jeweils 0,2 Einheiten angehoben. Die einzelnen Werte und der Kurvenverlauf sind aus Tabelle 3 und den Abbildungen 3 und 4 zu ersehen.

Bis pH 7,2 verkürzten sich die Entfärbezeiten von Methylenblau zunächst geringfügig, weitere pH-Anhebung ergab eine kontinuierliche Verzögerung der Meßwerte. Die Resazurin- und die Nitritreduktion verzögerten sich mit steigendem pH gleichmäßig. Dies führte zu einem Überschneiden der Methylenblau- und der Resazurinkurven bei pH 7,1, die Reduktion von Resazurin dauerte bei höherem pH länger als die von Methylenblau. Bei der Glukosegärprobe wurde mit steigendem pH immer weniger Gas gebildet.

Bei erhöhten pH-Werten zeigte der Resazurintest ein anderes Verhalten als die Methylenblauprobe. Die ermittelten Werte drückten jedoch stets die gleiche Aktivitätsstufe des untersuchten Pansensaftes aus. Die Nitritreduktion verlief bis pH 7,6 parallel zu der des Resazurins.

Tabelle 3: Ausfall der Reduktionsproben mit Methylenblau, Resazurin und Nitrit sowie der Glukosegärprobe bei Anhebung des pH-Wertes von aktivem Pansen-saft in vitro mit Hilfe von Natriumbikarbonat.
3 Versuche

Versuch 1

pH-Wert	Mb.-Red. min	Res.-Red. min	Nitrit-Red. min, Probe I/II/III	Glukosegär- probe ml Gas/Std.
6,4	1'02	35"	5/10/15	0,9
6,6	1'05	38"	5/10/20	0,9
6,8	1'09	48"	5/10/25	0,8
7,0	1'07	51"	5/10/25	0,9
7,2	50"	59"	5/10/25	1,1
7,4	32"	1'01	5/10/30	0,8
7,6	49"	1'04	10/20/35	0,8
7,8	59"	1'31	10/35/50	0,6
8,0	1'11	2'12	15/45/60	0,5

Versuch 2

6,4	1'11	32"	5/10/15	0,6
6,6	1'12	34"	5/10/25	0,6
6,8	1'13	40"	5/20/35	0,6
7,0	1'11	55"	5/30/40	0,6
7,2	1'	1'07	5/30/50	0,6
7,4	47"	1'13	5/30/55	0,6
7,6	48"	1'38	5/30	0,6
7,8	1'03	2'01	10/30	0,4
8,0	1'17	2'27	10/40	0,4

Versuch 3

6,4	1'30	44"	5/10/15	0,6
6,6	1'35	45"	5/10/20	0,6
6,8	1'28	49"	5/10/35	0,7
7,0	1'12	55"	5/20/35	0,6
7,2	1'04	1'17	5/20/55	0,6
7,4	53"	1'24	5/35	0,5
7,6	56"	1'37	5/40	0,5
7,8	1'09	2'10	10/45	0,4
8,0	1'23	2'34	15/50	0,3

Mb = Methylenblau
Res = Resazurin

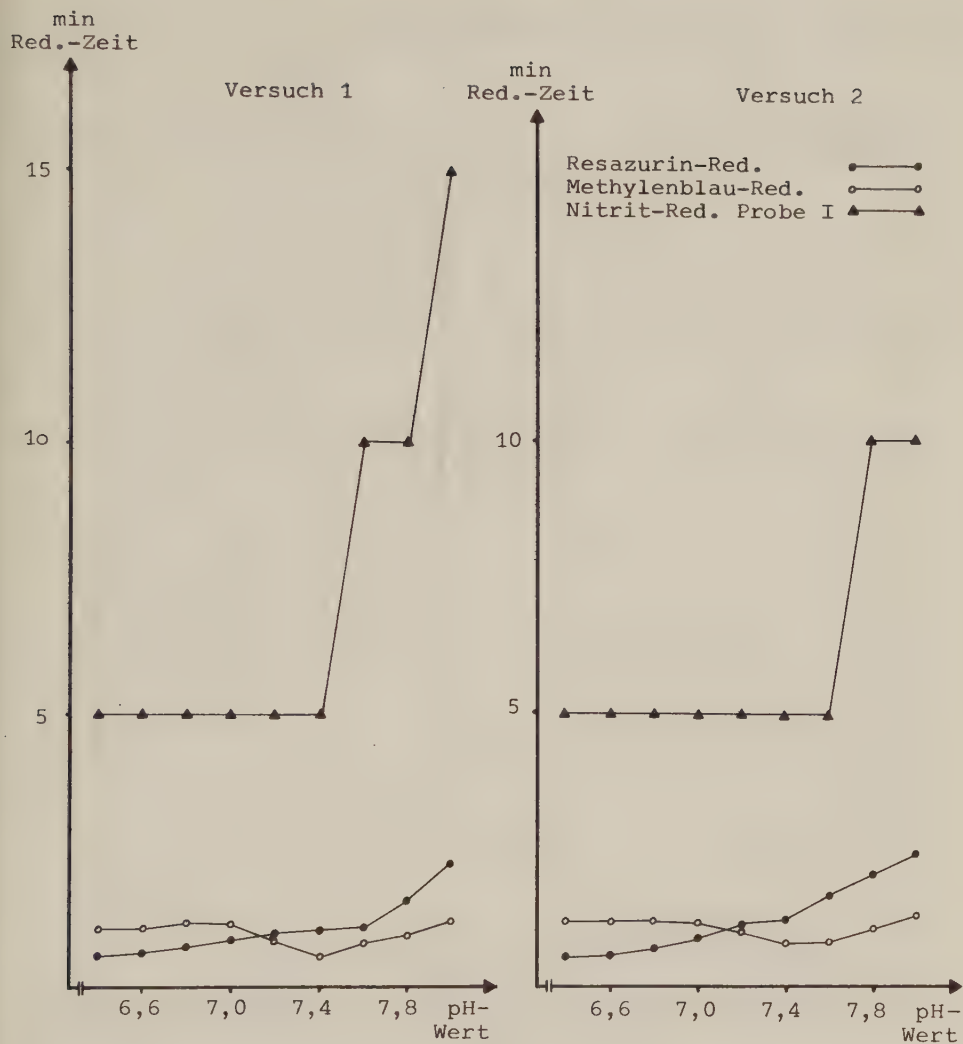


Abbildung 3: Ausfall der Reduktionsproben mit Methylenblau, Resazurin und Nitrit bei Anhebung des pH-Wertes von aktivem Pansensaft in vitro mit Hilfe von Natriumbikarbonat. Versuch 1 und 2

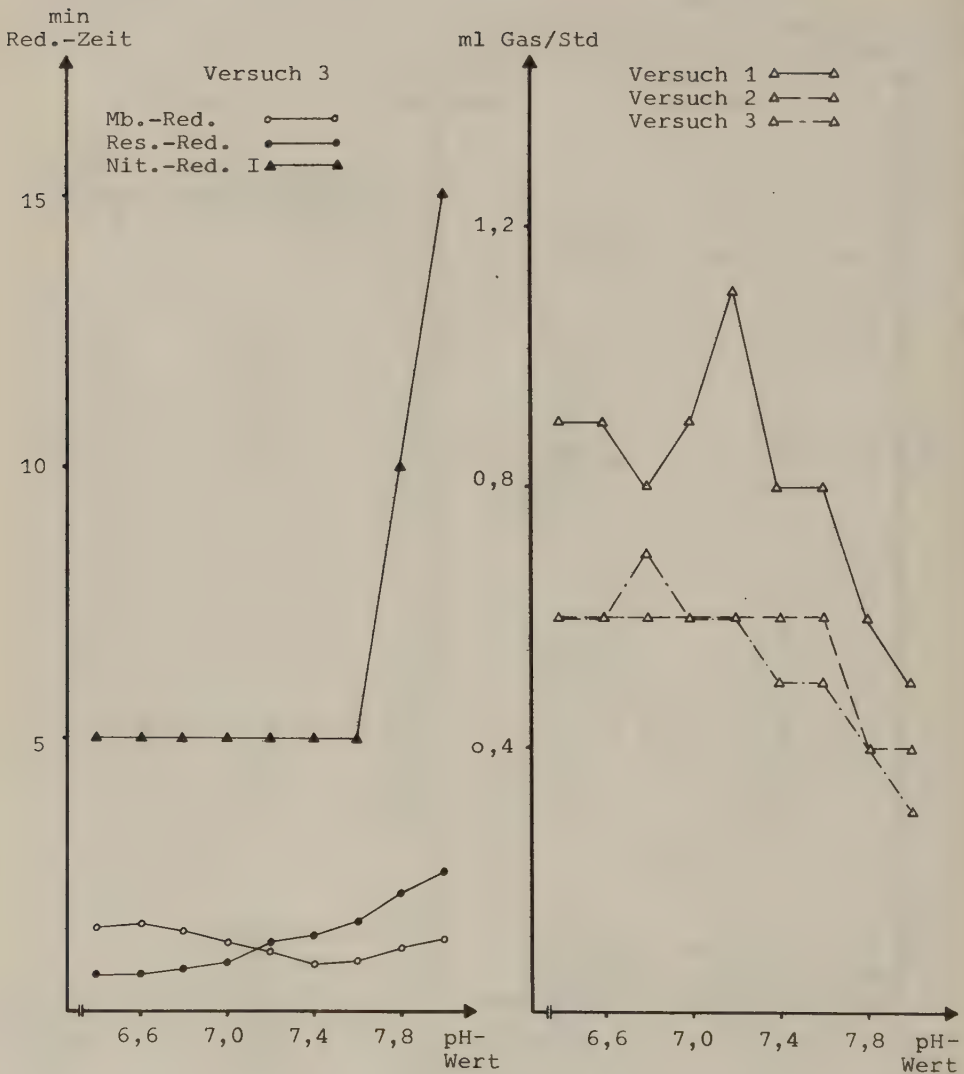


Abbildung 4: Ausfall der Reduktionsproben mit Methylenblau, Resazurin und Nitrit (Versuch 3) und der Glukosegärprobe (Versuch 1-3) bei Anhebung des pH-Wertes von aktivem Pansensaft in vitro mit Hilfe von Natriumbikarbonat.

Verlauf der Reduktionsproben und der Glukosegärprobe bei Inaktivierung der Vormagenflora durch Strohütterung beim Schaf.

Mit den beiden Merinolandschaften wurden im Abstand von 3 Wochen je 2 Versuche zur Inaktivierung der Vormagenflora durch Strohütterung durchgeführt. Die Entnahme der Pansensaftproben erfolgte täglich um 8 Uhr, 12 Uhr und 16 Uhr. Den Tieren stand Heu zu freien Aufnahme zur Verfügung. Ab 9 Uhr des 2. Versuchstages bekamen die Schafe Stroh ad libitum verabreicht, um 17 Uhr des 5. Versuchstages wurde wieder auf Heufütterung übergegangen.

Die einzelnen Angaben und Werte sind aus den Tabellen 4 - 7, der Kurvenverlauf aus den Abbildungen 5 - 8 zu ersehen.

Versuch 1 (Schaf Nr. 50)

Bis zum Abend des 5. Versuchstages verzögerten sich die Reduktionszeiten von 1'40 auf 10'30 für Methylenblau, für Resazurin von 50" auf 5'22 und für die Probe I der Nitritreduktion von 5' auf 30'. Die bei der Glukosegärprobe gebildete Gasmenge verringerte sich von 1,6 ml auf 0,05 ml Gas/Stunde. Prozentual zum Ausgangswert fielen in diesem Zeitraum die Reduktionszeiten um 530% für Methylenblau, um 544% für Resazurin und um 500% für Nitrit ab. Bei der Glukosegärprobe wurden 3,13% des Ausgangswertes gemessen.

Der pH-Wert stieg zunächst nach Strohütterung innerhalb von 4 Stunden von 7,16 auf 7,25 an, fiel bis zum Morgen des 3. Versuchstages auf 6,8 ab und blieb während des weiteren Versuches ablaufes in etwa auf diesem Wert.

Versuch 2 (Schaf Nr. 50)

Nach Strohverabreichung verzögerten sich die Reduktionszeiten

allmählich bis zum Abend des 5. Versuchstages von 1'02 auf 5'15 für Methylenblau (d.h. um 408%), von 30" auf 2'30 für Resazurin (d.h. um 400%) und von 5' auf 25' für Nitrit (d.h. um 400%). Bei der Glukosegärprobe wurden mit 0,05 ml Gas 5% des Ausgangswertes von 1,0 ml Gas/Stunde gemessen. Der pH-Wert stieg nach Strohütterung innerhalb von 4 Stunden von 7,06 auf 7,28 an, fiel während des 3. Versuchstages auf 6,85 ab und erreichte am 4. Versuchstag mit pH 7,66 seinen Höchstwert.

Versuch 3 (Schaf Nr. 52)

Die Reduktionszeiten verzögerten sich bis zum Abend des 5. Versuchstages für Methylenblau von 1'45 auf 8'15 (d.h. um 371%), für Resazurin von 55" auf 2'55 (d.h. um 218%) und von 10' auf 40' für Nitrit (d.h. um 300%). Die Gasmenge bei der Glukosegärprobe verringerte sich von 0,8 ml auf 0 ml Gas/Stunde. Der pH-Wert stieg nach Strohütterung innerhalb von 4 Stunden von 6,7 auf 6,83 an, fiel während der nächsten 4 Stunden auf 6,68 ab und blieb bis Versuchsende in etwa auf diesem Wert.

Versuch 4 (Schaf Nr. 52)

Nach Strohverabreichung verzögerten sich die Reduktionszeiten bis zum Abend des 5. Versuchstages von 1'27 auf 6' für Methylenblau, (d.h. um 214%), von 56" auf 2'19 für Resazurin (d.h. um 148%) und von 5' auf 20' für Nitrit (d.h. um 300%). Bei der Glukosegärprobe wurden mit 0,05 ml Gas 10% des Ausgangswertes von 0,5 ml Gas/Stunde gemessen.

Innerhalb von 4 Stunden nach Strohütterung stieg der pH-Wert von 6,43 auf 6,77 an, erreichte am Morgen des 3. Versuchstages mit 7,26 einen Höchstwert, fiel bis zum Abend dieses Tages auf 6,75 ab und hielt sich bis zum Ende des Versuches bei pH 6,8.

Tabelle 4: Ausfall der Reduktionsproben mit Methylenblau, Resazurin und Nitrit sowie der Glukosegärprobe bei Inaktivierung der Vormagenflora durch Strohfütterung beim Schaf. Versuch 1

Uhr- zeit	Res.-Red. min	Mb.-Red. min	Nit.-Red. min, Probe I/II/III	Glukose- gärprobe ml Gas/Std.	pH-Wert
1. Versuchstag					
8 ⁰⁰	25"	1' 03	5/10/15	1,0	7,11
12 ⁰⁰	55"	1' 36	5/15/20	1,2	7,24
16 ⁰⁰	22"	50"	5/10/20	0,8	7,08
2. Versuchstag					
8 ⁰⁰	50"	1' 40	5/10/15	1,6	7,16
8 ⁰⁵	Strohfütterung				
12 ⁰⁰	1'	1' 50	5/20/40	1,0	7,25
16 ⁰⁰	1' 45	3' 05	10/35/45	0,6	7,19
3. Versuchstag					
8 ⁰⁰	1' 57	3' 20	10/40/60	0,4	6,79
12 ⁰⁰	2' 40	5' 20	10/30/50	0,1	6,81
16 ⁰⁰	2' 45	5' 08	15/30/40	0,2	6,72
4. Versuchstag					
8 ⁰⁰	2' 50	5' 30	15/40	0,2	6,70
12 ⁰⁰	3' 05	6'	15/55	0,1	6,86
16 ⁰⁰	3' 20	6' 20	20'	0,2	6,73
5. Versuchstag					
8 ⁰⁰	2' 50	5' 55	25'	0,1	7,05
12 ⁰⁰	3' 45	6' 09	30'	0,05	6,86
16 ⁰⁰	5' 22	10' 30	30'	0,05	6,94
17 ⁰⁰	Heufütterung				
6. Versuchstag					
8 ⁰⁰	1' 10	2'	15/25/35	0,1	6,38
12 ⁰⁰	40"	1' 10	10/20/30	0,2	6,57
16 ⁰⁰	35"	1' 10	10/20/30	0,4	6,52

Res = Resazurin

Mb = Methylenblau

Nit = Nitrit

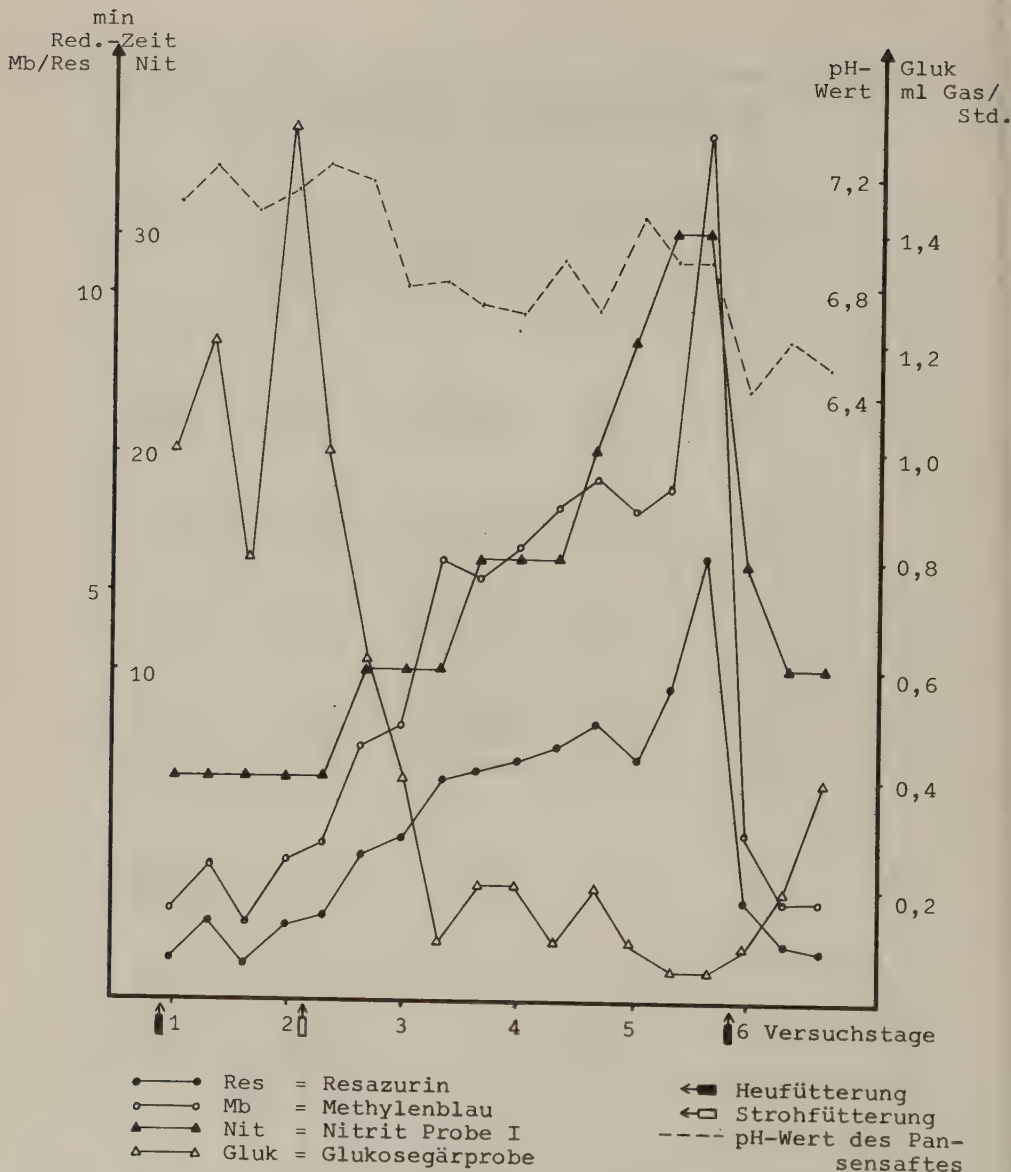


Abbildung 5: Verlauf der Reduktionsproben mit Methylenblau, Resazurin und Nitrit, Gasbildung und pH-Wert bei Inaktivierung der Pansenflora durch Strohfütterung beim Schaf. Versuch 1

Tabelle 5: Ausfall der Reduktionsproben mit Methylenblau, Resazurin und Nitrit sowie der Glukosegärprobe bei Inaktivierung der Vormagenflora durch Strohfütterung beim Schaf. Versuch 2

Uhr- zeit	Res.-Red. min	Mb.-Red. min	Nit.-Red. min, Probe I/II/III	Glukose- gärprobe ml Gas/Std.	pH-Wert
1. Versuchstag					
8 ⁰⁰	14"	21"	5/10/15	1,3	6,87
12 ⁰⁰	1' 39	2' 25	5/15/20	1,2	7,04
16 ⁰⁰	21"	42"	5/10/20	1,4	6,77
2. Versuchstag					
8 ⁰⁰	30"	1' 02	5/10/15	1,0	7,06
8 ⁰⁵	Strohfütterung				
12 ⁰⁰	1' 17	2'	10/40/60	0,9	7,28
16 ⁰⁰	1' 33	2' 50	10/40/60	0,8	7,24
3. Versuchstag					
8 ⁰⁰	1' 35	2' 35	10/30/40	0,8	7,10
12 ⁰⁰	1' 55	3' 40	15/40/55	0,7	6,96
16 ⁰⁰	2'	3'	15/50	0,6	6,85
4. Versuchstag					
8 ⁰⁰	2' 06	3' 15	15/55	0,4	7,66
12 ⁰⁰	2' 11	3' 38	20/55	0,4	7,63
16 ⁰⁰	2' 30	3' 44	20'	0,05	7,58
5. Versuchstag					
8 ⁰⁰	2' 51	3' 56	20'	0,05	6,71
12 ⁰⁰	2' 30	4' 39	25'	0,05	6,87
16 ⁰⁰	2' 30	5' 15	25'	0,05	7,03
17 ⁰⁰	Heufütterung				
6. Versuchstag					
8 ⁰⁰	1' 09	2' 04	10/35/55	0,2	6,31
12 ⁰⁰	1' 24	2' 30	10/25/40	0,3	6,54
16 ⁰⁰	1'	2' 15	5/15/25	0,5	6,51

Res = Resazurin

Mb = Methylenblau

Nit = Nitrit

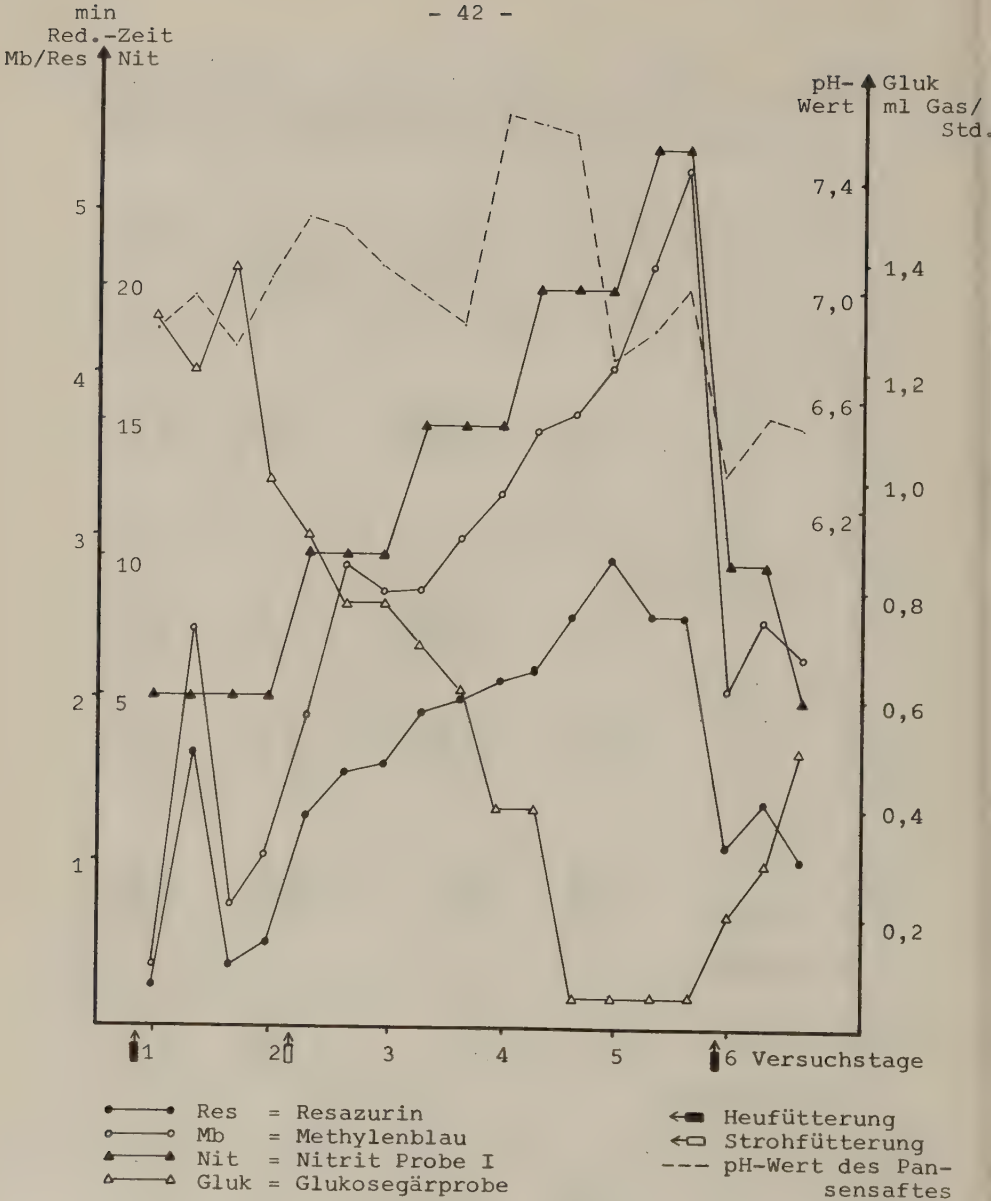


Abbildung 6: Verlauf der Reduktionsproben mit Methylenblau, Resazurin und Nitrit, Gasbildung und pH-Wert bei Inaktivierung der Pansenflora durch Strohfütterung beim Schaf. Versuch 2

Tabelle 6: Ausfall der Reduktionsproben mit Methylenblau, Resazurin und Nitrit sowie der Glukosegärprobe bei Inaktivierung der Vormagenflora durch Stroh- fütterung beim Schaf. Versuch 3

Uhr-zeit	Res.-Red. min	Mb.-Red. min	Nit.-Red. min, Probe I/II/III	Glukose- gärprobe ml Gas/Std.	pH-Wert
1. Versuchstag					
8 ⁰⁰	40"	1' 12	10/20/30	1,0	6,61
12 ⁰⁰	1' 12	1' 14	10/25/40	1,2	6,72
16 ⁰⁰	1'	1' 50	10/20/30	1,0	6,56
2. Versuchstag					
8 ⁰⁰	55"	1' 45	10/20/30	0,8	6,70
8 ⁰⁵	Strohfütterung				
12 ⁰⁰	1' 10	2' 10	10/30/55	0,3	6,83
16 ⁰⁰	1' 30	3'	20/40/55	0,05	6,68
3. Versuchstag					
8 ⁰⁰	2'	3' 27	30'	-	6,61
12 ⁰⁰	2' 15	4' 10	30'	-	6,65
16 ⁰⁰	2' 40	4' 37	30'	0,05	6,64
4. Versuchstag					
8 ⁰⁰	2' 32	5' 28	35'	0,05	6,68
12 ⁰⁰	3' 15	6' 30	35'	0,05	6,73
16 ⁰⁰	3'	6' 51	35'	0,05	6,69
5. Versuchstag					
8 ⁰⁰	2' 35	6' 38	40'	-	6,57
12 ⁰⁰	2' 45	7' 55	40'	-	6,65
16 ⁰⁰	2' 55	8' 15	40'	-	6,65
17 ⁰⁰	Heufütterung				
6. Versuchstag					
8 ⁰⁰	1' 40	3' 13	30/50	0,2	6,16
12 ⁰⁰	1'	2' 18	20/45/55	0,4	6,43
16 ⁰⁰	24"	45"	10/20/35	0,3	6,40

Res = Resazurin

Mb = Methylenblau

Nit = Nitrit

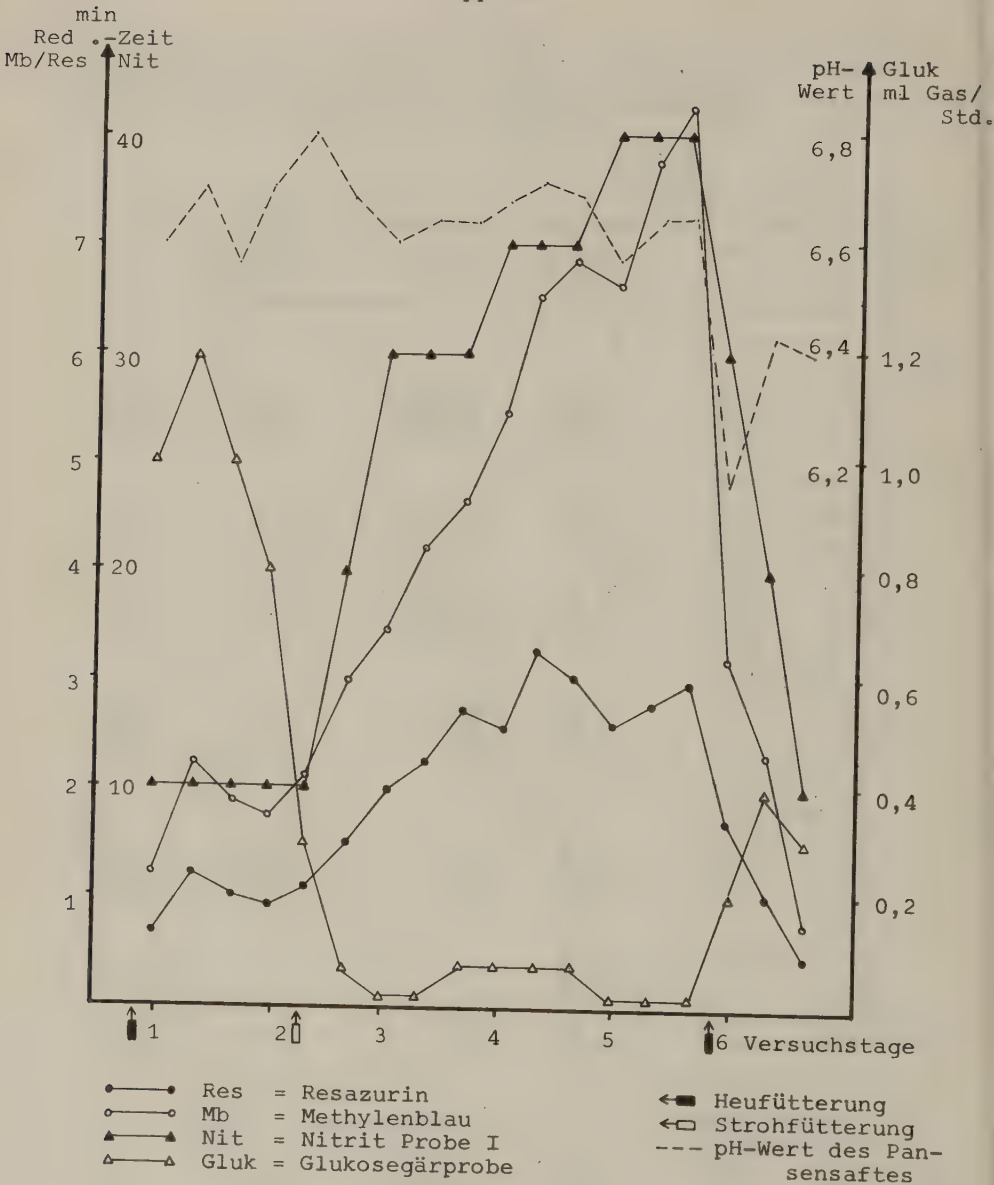


Abbildung 7: Verlauf der Reduktionsproben mit Methylenblau, Resazurin und Nitrit, Gasbildung und pH-Wert bei Inaktivierung der Pansenflora durch Strohfütterung beim Schaf. Versuch 3

Tabelle 7: Ausfall der Reduktionsproben mit Methylenblau, Resazurin und Nitrit sowie der Glukosegärprobe bei Inaktivierung der Vormagenflora durch Strohfütterung beim Schaf. Versuch 4

Uhr- zeit	Res.-Red. min	Mb.-Red. min	Nit.-Red. min, Probe I/II/III	Glukose- gärprobe ml Gas/Std.	pH-Wert
1. Versuchstag					
8 ⁰⁰	40"	1' 17	5/20/30	0,6	6,17
12 ⁰⁰	1' 13	2' 37	10/30/35	0,6	6,20
16 ⁰⁰	52"	1' 44	5/20/35	0,6	6,52
2. Versuchstag					
8 ⁰⁰	56"	1' 27	5/20/25	0,5	6,43
8 ⁰⁵	Strohfütterung				
12 ⁰⁰	1' 25	2' 17	10/30/50	0,3	6,72
16 ⁰⁰	2' 15	3' 20	10/40/60	0,4	6,83
3. Versuchstag					
8 ⁰⁰	2' 22	3' 17	10/45/60	0,1	7,26
12 ⁰⁰	1' 30	3' 45	10/40	0,1	7,05
16 ⁰⁰	2' 05	4' 13	15/50	0,1	6,75
4. Versuchstag					
8 ⁰⁰	2' 15	3'	15/50	0,1	6,97
12 ⁰⁰	1' 51	3' 36	15'	0,05	6,81
16 ⁰⁰	2' 19	4' 12	20'	0,05	6,79
5. Versuchstag					
8 ⁰⁰	1' 45	3' 50	20'	0,05	6,93
12 ⁰⁰	2' 10	4' 05	20'	0,05	6,87
16 ⁰⁰	2' 45	6' 23	20'	0,05	6,72
17 ⁰⁰	Heufütterung				
6. Versuchstag					
8 ⁰⁰	35"	1' 05	10/30/60	0,4	6,57
12 ⁰⁰	45"	1' 33	10/30/45	0,4	6,63
16 ⁰⁰	45"	1' 20	5/20/35	0,2	6,61

Res = Resazurin

Mb = Methylenblau

Nit = Nitrit

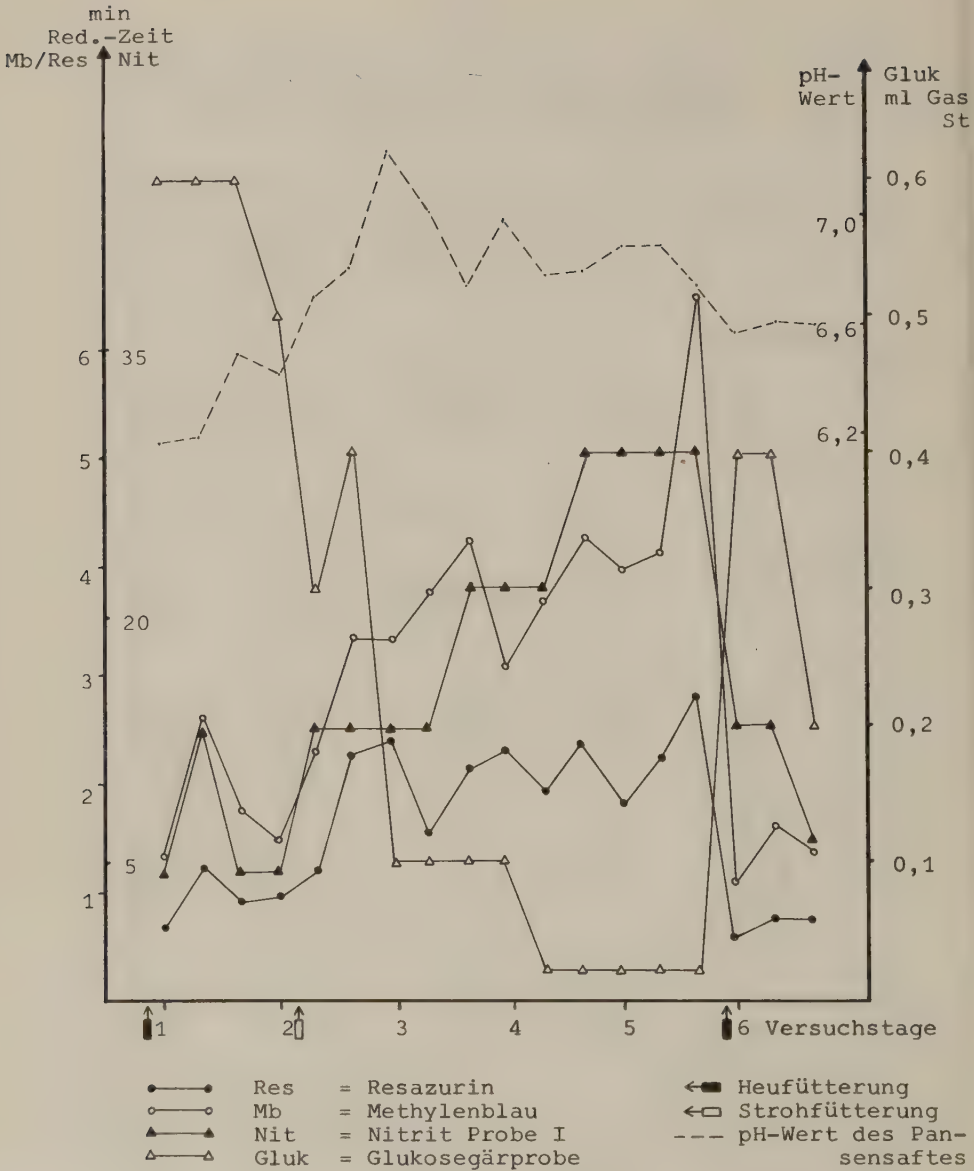


Abbildung 8: Verlauf der Reduktionsproben mit Methylenblau, Resazurin und Nitrit, Gasbildung und pH-Wert bei Inaktivierung der Pansenflora durch Stroh-fütterung beim Schaf. Versuch 4

Vergleich der bei Strohütterung und bei Heufütterung an Schafen mit den Reduktionsproben und der Glukosegärprobe gewonnenen Ergebnisse

Von den Versuchstieren wurden insgesamt 164 Pansensaftproben entnommen, davon 102 Proben bei Heu- und 62 Proben bei Strohütterung. Die Untersuchungsergebnisse wurden nach den Reduktionszeiten für Methylenblau in Gruppen eingeteilt und die zugehörigen Mittelwerte jeder Bereichsgruppe der Resazurin- und der Nitritreduktion sowie der Glukosegärprobe bestimmt. Die einzelnen Werte sind in den Tabellen 8 und 9 aufgeführt.

Mit Hilfe dieser Mittelwerte wurden die Beziehungen zwischen der Entfärbezeit für Methylenblau und den Reduktionszeiten für Resazurin und Nitrit und der Gasmenge bei der Glukosegärprobe untersucht und mittels Korrelationsrechnung verglichen. Die Ergebnisse sind aus Tabelle 10 zu ersehen.

Die Reduktion des Resazurins verlief bei den festgelegten Farbstoffkonzentrationen bei Heu- und bei Strohütterung bei allen Aktivitätsstufen des Pansensaftes etwa doppelt so schnell wie die des Methylenblaus.

Der Nitrittest zeigte im Vergleich zur Methylenblauprobe ein analoges Verhalten. Bei den Versuchen 1 und 2 (Schaf Nr. 50) war der prozentuale Anstieg der Reduktionszeiten bei zunehmenden Methylenblauzeiten der gleiche, in Versuch 3 (Schaf Nr. 52) war er kleiner, in Versuch 4 (Schaf Nr. 52) war er größer als der prozentuale Anstieg der Entfärbezeiten von Methylenblau.

Die bei der Glukosegärprobe gebildete Gasmenge folgte bei Heu- und bei Strohütterung einer ähnlichen, hoch signifikanten Beziehung zu der Entfärbezeit für Methylenblau. Dabei wurden mit 0,1 - 1,6 ml Gasbildung/Stunde weit differierende Werte im Bereich für hochaktiven Pansensaft nach der Methylenblauprobe gemessen, die teilweise andere Aussagen über den Aktivitätszustand des Vormageninhaltes machten als der Methylenblautest.

Tabelle 8: Einteilung der Reduktionszeiten von Resazurin und Nitrit und der bei der Glukosegärprobe gebildeten Gasmenge nach dem Ausfall der Methylenblauprobe bei der Untersuchung des Pansensaftes von Schafen mit Heufütterung. In Klammern die jeweiligen Abweichungen jeder Bereichsgruppe vom Mittelwert.

Bereich der Mb.-Zeiten in Sekunden	$\bar{x}$ Mb.-Red. in Sekunden	$\bar{x}$ Res.-Red. in Sekunden	$\bar{x}$ Nit.-Red. min Probe /		$\bar{x}$ Glukosegärprobe ml Gas/Std.	n
			I	II		
0 - 30	23,8	18,3 (6,5)	5,0(0,0)/	8,3 (2,6)	1,25 (0,46)	6
31 - 45	40,1	23,3 (5,7)	5,5(1,5)/11,4	(3,2)	1,22 (0,46)	11
46 - 60	55,1	28,9 (4,6)	5,0(0,0)/10,5	(1,6)	1,18 (0,38)	10
61 - 75	67,1	35,5 (5,2)	7,5(4,5)/18,8	(7,6)	0,80 (0,43)	16
76 - 90	82,7	45,8 (6,8)	7,5(2,6)/18,8	(6,0)	0,61 (0,36)	12
91 - 105	99,8	53,8 (6,6)	8,2(2,5)/20,0	(8,7)	0,72 (0,46)	11
106 - 115	113,0	60,6 (4,4)	9,3(3,4)/19,3	(5,3)	0,68 (0,35)	7
116 - 130	129,5	64,2 (8,2)	8,3(2,6)/25,0	(7,1)	0,60 (0,51)	6
131 - 145	143,3	85,9(15,6)	12,0(7,1)/28,5	(10,6)	0,58 (0,40)	10
146 - 160	159,9	79,0(12,0)	13,1(4,6)/30,6	(6,2)	0,51 (0,33)	8
161 - 180	180,0	86,8(35,7)	15,0(6,1)/18,3	(18,9)	0,71 (0,91)	5

Mb = Methylenblau, Res = Resazurin,
 $\bar{x}$ = Mittelwert jeder Bereichsgruppe

Nit = Nitrit, n = Anzahl der Proben

Tabelle 9: Einteilung der Reduktionszeiten von Resazurin und Nitrit und der bei der Glukosegärprobe gebildeten Gasmenge nach dem Ausfall der Methylenblauprobe bei der Untersuchung des Pansensaftes von Schafen mit Strohfüütterung. In Klammern die jeweiligen Abweichungen jeder Bereichsgruppe vom Mittelwert.

Bereich der Mb.-Zeiten in Sekunden	$\bar{x}$ Mb.-Red. in Sekunden	$\bar{x}$ Res.-Red. in Sekunden	Nit.-Red. min Probe I	$\bar{x}$ Glukosegärprobe ml Gas/Std.	n
90 - 120	107,5	60,0 (0,0)	7,5 (3,5)	0,60 (0,56)	2
121 - 150	141,0	91,8 (24,5)	12,5 (2,9)	0,29 (0,23)	4
151 - 180	173,7	106,0 (21,0)	16,3 (6,3)	0,39 (0,54)	4
181 - 210	197,3	109,6 (16,5)	15,0 (5,6)	0,33 (0,20)	12
211 - 240	224,6	109,6 (6,7)	16,0 (7,4)	0,21 (0,17)	5
241 - 270	258,0	142,7 (34,0)	19,5 (6,3)	0,23 (0,26)	9
271 - 300	286,3	153,3 (5,8)	26,6 (5,7)	0,17 (0,20)	3
301 - 330	314,3	163,3 (28,9)	25,0 (13,2)	0,07 (0,03)	3
331 - 360	350,4	166,7 (30,0)	23,6 (8,0)	0,12 (0,07)	7
361 - 390	381,6	198,4 (69,0)	39,0 (19,5)	0,07 (0,07)	5
391 - 420	397,0	228,5 (16,2)	47,5 (0,4)	0,00 (0,00)	2
421 - 630	521,7	268,7 (99,0)	40,8 (15,6)	0,04 (0,04)	6

Mb = Methylenblau, Res = Resazurin, Nit = Nitrit, n = Anzahl der Proben,
 $\bar{x}$ = Mittelwert jeder Bereichsgruppe

Tabelle 10: Beziehung zwischen der Methylenblauprobe und den Reduktionszeiten von Resazurin und Nitrit sowie der Glukosegärprobe bei Heu- und Strohfütterung beim Schaf.

	Heufütterung n = 102	Strohfütterung n = 62
Res.- Zeit	= 0,48 Mb.-Zeit + 5,8 r = 0,983	0,49 Mb.-Zeit + 12,2 r = 0,985
Nit.-Zeit Probe I	= 0,06 Mb.-Zeit + 2,5 r = 0,952	0,09 Mb.-Zeit - 2,1 r = 0,906
Glukosegär- probe ml Gas/Stunde	= 2,5 - 0,9 log Mb.-Zeit r = -0,891	2,1 - 0,8 log Mb.-Zeit r = -0,931

Mb = Reduktionszeit für Methylenblau in Sekunden
 Res = Reduktionszeit für Resazurin in Sekunden
 Nit = Reduktionszeit für Nitrit (Probe I) in Minuten
 n = Anzahl der Proben
 r = Korrelationskoeffizient

Verlauf der Reduktionsproben und der Glukosegärprobe bei Inaktivierung der Vormagenflora durch Strohütterung beim Rind

Die beiden Versuchstiere waren auf eine gemischte Ration bestehend aus Heu und Kraftfutter eingestellt, die den Erhaltungsbefarf zuzüglich einer Milchleistung von 5 l deckte. Gefüttert wurde täglich um 6⁰⁰ Uhr und um 14⁰⁰ Uhr. Die Pansensaftentnahme erfolgte jeweils um 8¹⁵ Uhr, 12⁰⁰ Uhr und um 15⁴⁵ Uhr. Mit den Fistelkühen wurden insgesamt 6 Versuche durchgeführt. Der Abstand zwischen zwei Versuchen an einem Tier betrug mindestens 4 Wochen.

Am Morgen des 1. Versuchstages erhielten die Tiere ihre gemischte Ration, zur Mittagsfütterung Stroh und von da an Stroh ad libitum verabreicht.

Innerhalb von 46 Stunden stiegen daraufhin die Reduktionszeiten von Methylenblau auf Werte über 15 Minuten an. Zu Mittag des 3. Versuchstages wurde an jedes Tier 2 kg Soja- bzw. Haferschrot zum Stroh gefüttert. Bei der Nachmittagsuntersuchung wurden daraufhin stark verkürzte Entfärbezeiten gemessen; bis zum nächsten Morgen waren die Werte jedoch wieder etwas verzögert. Die Tiere erhielten daraufhin nochmals 1,5 kg Soja- bzw. Haferschrot. Um 17⁰⁰ Uhr des 4. Versuchstages wurden ebenfalls 1,5 kg Schrot verabreicht, um 9⁰⁰ Uhr des nächsten Tages wurde wieder auf die gemischte Ration umgestellt.

Die einzelnen Werte sind in den Tabellen 11 - 16 aufgeführt, der Kurvenverlauf ist aus den Abbildungen 9 - 14 zu ersehen.

Versuch 1 (Dtsch. Schwarzbunte Kuh)

Nach Strohgabe verzögerten sich die Reduktionszeiten bis zum Mittag des 3. Versuchstages kontinuierlich, und zwar von 1'30" auf 16'30" für Resazurin, von 2'30" auf 19'15" für Methylenblau und von 5' auf 75' für Nitrit. Dabei wurde bei der Methy-

lenblauprobe das 7,7-fache des Ausgangswertes erreicht, die Reduktionszeit für Resazurin stieg um das 11-fache, die Zeit für die Nitritreduktion um das 15-fache an. Die bei der Glukosegärprobe gebildete Gasmenge verringerte sich im gleichen Zeitraum von 0,6 ml Gas/Stunde auf 0 ml.

Der pH-Wert stieg nach Strohütterung in 2 Stunden von 6,63 auf 7,22 an, erreichte am Nachmittag des 2. Versuchstages seinen Höchstwert mit 7,41 und blieb bis zur Schrotzulage in etwa auf pH 7,2.

Versuch 2 (Dtsch. Schwarzbunte Kuh)

Verzögerung der Reduktionszeiten innerhalb von 46 Stunden von 1'36" auf 15'52" für Resazurin (d.h. um das 9,9-fache), von 1'53" auf 17'48" für Methylenblau (d.h. um das 9,5-fache) und von 5' auf 70' für Nitrit (d.h. um das 14-fache). Die Gasmenge bei der Glukosegärprobe sank von 0,6 auf 0 ml Gas/Stunde ab. Der pH-Wert stieg nach Strohütterung in 2 Stunden von 6,83 auf 7,05 an und verblieb im weiteren Verlauf auf etwa pH 7,2.

Versuch 3 (Dtsch. Schwarzbunte Kuh)

Die Reduktionszeiten verlängerten sich bis zum Mittag des 3. Versuchstages von 44" auf 16'48" bei der Resazurinprobe (d.h. um das 22,9-fache), von 1'37" auf 23'31" für Methylenblau (d.h. um das 14,5-fache) und von 5' auf 95' bei der Nitritprobe (d.h. um das 19-fache). Die Gasbildung sank von 0,6 ml Gas/Stunde auf 0 ab, der pH-Wert stieg in 2 Stunden nach Strohgabe von 6,76 auf 7,18 an.

Versuch 4 (Dtsch. Braunviehkuh)

Innerhalb von 46 Stunden nach Strohgabe verzögerten sich die

Reduktionszeiten von 55" auf 16'04" für Resazurin (d.h. um das 17,5-fache), von 1'57" auf 17'57" für Methylenblau (d.h. um das 9,2-fache) und von 10' auf 80' bei der Nitritprobe (d.h. um das 8-fache). Der pH-Wert stieg innerhalb von 18 Stunden von pH 6,73 auf pH 7,50 an. Die bei der Glukosegärprobe gebildete Gasmenge sank von 1,2 ml Gas/Stunde auf 0 ab.

Versuch 5 (Dtsch. Braunviehkuh)

Bis zum Mittag des 3. Versuchstages verzögerten sich die Reduktionszeiten von 57" auf 15'19" für Resazurin (d.h. um das 16,1-fache), von 1'57" auf 19' für Methylenblau (d.h. um das 9,7-fache) und von 10' auf 85' für Nitrit (d.h. um das 8,5-fache). Die Gasbildung sank von 0,4 ml Gas/Stunde auf 0 ab. Der pH-Wert stieg in 18 Stunden nach Strohgabe von pH 6,78 auf pH 7,54 an.

Versuch 6 (Dtsch. Braunviehkuh)

Nach Strohfütterung verzögerten sich die Entfärbezeiten innerhalb von 46 Stunden kontinuierlich von 27" auf 18' für Resazurin (d.h. um das 40-fache), von 49" auf 18'43" für Methylenblau (d.h. um das 19-fache) und von 5' auf 90' für Nitrit (d.h. um das 18-fache). Die Gasmenge sank von 0,7 ml Gas/Stunde auf 0 ab, der pH-Wert stieg innerhalb von 18 Stunden von 6,25 auf 7,40 an.

Die Veränderungen der makroskopischen Proben verliefen bei allen Versuchen in etwa gleich. Sie sind aus den Tabellen 11 - 16 zu ersehen.

Die Resazurinreduktionsprobe verlief bei Inaktivierung der Vormagenflora durch Strohfütterung parallel zu der des Me-

thylenblaus. Prozentual zum Ausgangswert verzögerte sich der Nitritabbau bei der Schwarzbunten Kuh stärker als die Methylenblauprobe, bei der Braunviehkuh waren diese Werte in etwa gleich.

Die Glukosegärprobe sank immer als erste der vier Proben auf ihre Tiefstwerte ab und erreichte im Zuge der Reaktivierung durch Schrotzulage stets als letzte Probe wieder ihren Ausgangswert.

Der pH-Wert stieg nach Strohütterung bei der Schwarzbunten Kuh innerhalb von 4 Stunden auf Werte über pH 7 an, bei der Braunviehkuh wurde dieser Wert jeweils erst nach 18 Stunden überschritten. Die unterschiedliche pH-Abhängigkeit der Redoxindikatoren Methylenblau und Resazurin wurde in den Versuchen 4 und 6 sichtbar, als bei pH-Werten über 7,4 das Resazurin langsamer entfärbt wurde als das Methylenblau. Diese starke Verzögerung der Resazurinreduktion machte sich aber nur nach plötzlichem pH-Anstieg bemerkbar, so wurden nach weiterem Ansteigen des pH in Versuch 6 - von pH 7,40 auf pH 7,69 - wieder deutlich kürzere Resazurinzeiten gemessen.

Die Breite des bei der Methylenblau- und der Resazurinreduktion an der Oberfläche der Proben durch Reoxydation der Farbstoffe durch den Luftsauerstoff entstehenden blauen bzw. roten Ringes vergrößerte sich zwar mit zunehmenden Entfärbezeiten, sie betrug bis zu einer Reduktionszeit von 3 Minuten der Methylenblaulösung zwischen 1 und 3 mm, bei längerer Entfärbedauer bis zu 20 Minuten wurden mit 4 - 7 mm sowohl größere, als auch mit 2 - 3 mm gleich große Werte wie bei hochaktivem Pansensaft ermittelt. Deshalb können an Hand der blauen bzw. roten Zone nur bedingt Rückschlüsse auf die Reduktionszeiten gezogen werden. So spricht eine Ringbreite von mehr als 3 mm für das Vorliegen von Entfärbezeiten über 3 Minuten bei der Methylenblauprobe oder über 1,5 Minuten beim Resazurintest, eine geringere Breite sagt nichts über die Reduktionsdauer aus.

Tabelle 11: Ausfall der Reduktionsproben mit Methylenblau, Resazurin und Nitrit, der Glukosegärprobe so- wie pH-Wert bei Inaktivierung der Vormagenflora durch Strohfütterung beim Rind. Versuch 1

Ver- suchs- tag	Uhr- zeit	Res.-Red. min	Mb.-Red. min	Nit.-Red. min, Probe 1/11/111	Glukose- gärprobe ml Gas/Std.	pH- Wert	Farbe	Geruch	Konsistenz	Sed/Flot	Infusorien
6 ⁰⁰											
Fütterung: gemischte Ration											
8 ¹⁵	1'	1'30	1'30	5/15/25	0,9	6,61	hellgrün	aromatisch	leicht viskös	++/-	+++ 3 Größen
12 ⁰⁰	1'	1'40	1'40	5/15/25	0,8	6,65	grünbraun	aromatisch	leicht viskös	++/-	+++ 3
14 ⁰⁰ Fütterung: gemischte Ration											
14 ⁰⁰	30"	55"	55"	5/15/20	0,8	6,62	grünbraun	aromatisch	leicht viskös	++/++-	+++ 3
15 ⁴⁵											
1. Tag											
Fütterung: gemischte Ration											
8 ¹⁵	50"	1'30	1'30	5/15/25	0,7	6,59	hellbraun	aromatisch	leicht viskös	++/-	+++ 3
12 ⁰⁰	50"	2'30	2'30	5/20/30	0,6	6,63	mittelbraun	aromatisch	leicht viskös	++/-	+++ 3
14 ⁰⁰ Fütterung: Stroh ad libitum											
14 ⁰⁰	1'40	2'50	2'50	15/35/50	0,8	7,22	hellbraun	schwach aro- matisch	wässrig	++/-	++ 3
8 ¹⁵	2'51	3'17	3'17	20'	0,2	7,07	mittelbraun	indifferent	wässrig	++/-	++ 3
12 ⁰⁰	3'33	4'42	4'42	25'	0,1	7,11	hellbraun	indifferent	wässrig	++/-	++ 2
15 ⁴⁵	6'30	7'21	7'21	30'	+	7,41	gelbbraun	fade	wässrig	++/-	++ 2
3. Tag											
8 ¹⁵	10'40	12'	12'	70'	-	7,25	gelbbraun	fade	wässrig	++/-	+
12 ⁰⁰	16'30	19'15	19'15	75'	-	7,12	gelbbraun	fade	wässrig	++/-	+
13 ⁰⁰ Fütterung: 2 kg Haferschrot + Stroh											
13 ⁰⁰	2'15	2'25	2'25	20'	+	7,03	milchiggelb	säuerlich	wässrig	---/---	+
15 ⁴⁵	1'58	3'09	3'09	30'	+	7,14	milchigbraun	säuerlich	wässrig	---/---	+
4. Tag											
Fütterung: 1,5 kg Haferschrot + Stroh											
8 ¹⁵	1'58	3'09	3'09	30'	+	7,14	milchigbraun	säuerlich	wässrig	---/---	+
9 ⁰⁰	1'58	3'09	3'09	30'	+	7,14	milchigbraun	säuerlich	wässrig	---/---	+
12 ⁰⁰	1'	1'26	1'26	15'	0,2	6,59	milchiggelb	säuerlich	wässrig	++/-	+
12 ⁴⁵	1'12	1'59	1'59	20'	0,1	6,67	milchigbraun	säuerlich	wässrig	++/-	+
16 ³⁰ Fütterung: 1,5 kg Haferschrot + Stroh											
16 ³⁰	1'14	2'14	2'14	10/30	0,3	6,80	milchigbraun	säuerlich	wässrig	++/-	++ 3
5. Tag											
8 ¹⁵	1'14	2'14	2'14	10/30	0,3	6,80	milchigbraun	säuerlich	wässrig	++/-	++ 3
9 ⁰⁰ Fütterung: gemischte Ration											
9 ⁰⁰	44"	1'45	1'45	10/25/50	0,4	6,52	milchigbraun	säuerlich	wässrig	++/-	++ 3
12 ⁰⁰	44"	1'45	1'45	10/25/50	0,4	6,52	milchigbraun	säuerlich	wässrig	++/-	++ 3
14 ⁰⁰ Fütterung: gemischte Ration											
14 ⁰⁰	40"	1'30	1'30	10/20/40	0,4	6,57	milchigbraun	säuerlich	wässrig	++/-	++ 3
15 ⁴⁵											
Fütterung: gemischte Ration											
6 ⁰⁰	53"	1'55	1'55	10/20/30	0,6	6,62	mittelbraun	säuerlich	etwas viskös	++/-	++ 3
8 ¹⁵	53"	1'55	1'55	10/20/30	0,6	6,62	mittelbraun	säuerlich	etwas viskös	++/-	++ 3
12 ⁰⁰	1'11	2'32	2'32	5/15/25	0,4	6,67	dunkelbraun	säuerlich	etwas viskös	++/-	++ 3
14 ⁰⁰ Fütterung: gemischte Ration											
14 ⁰⁰	47"	1'43	1'43	5/10/20	0,8	6,65	dunkelbraun	säuerlich	leicht viskös	++/-	+++ 3
15 ⁴⁵	47"	1'43	1'43	5/10/20	0,8	6,65	dunkelbraun	säuerlich	leicht viskös	++/-	+++ 3

Mb = Methylenblau, Res = Resazurin, Nit = Nitrit

Sed = Sedimentation, Flot = Flotation

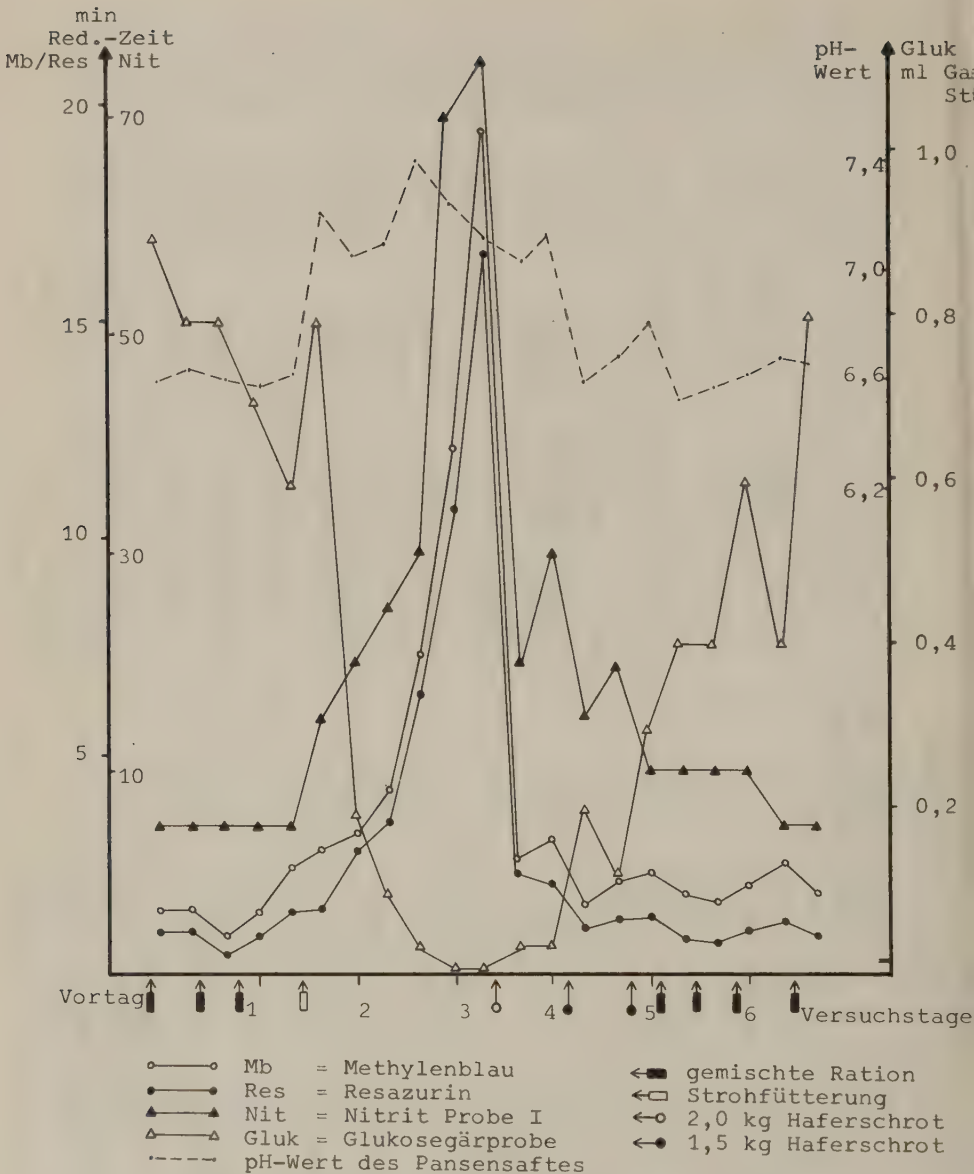


Abbildung 9: Verlauf der Reduktionsproben mit Methylenblau, Resazurin und Nitrit, Gäsbildung und pH-Wert bei Inaktivierung der Pansenflora durch Strohfütterung und anschließender Schrotzulage beim Rind. Versuch 1

Tabelle 12: Ausfall der Reduktionsproben mit Methyleneblau, Resazurin und Nitrit, der Glukosegärprobe so- wie pH-Wert bei Inaktivierung der Vormagenflora durch Strohfütterung beim Rind. Versuch 2

Ver- suchs- tag	Uhr- zeit	Res.-Red. min	Mb.-Red. min	Nit.-Red. min, Probe 1/11/III	Glukose- gärprobe ml Gas/Std.	Farbe	Geruch	Konsistenz	Sed/Plot	Infusorien
6 ⁰⁰ Fütterung: gemischte Ration										
8 ¹⁵	46"	1'36	5/10/20	1,2	6,63	grünbraun	aromatisch	viskös	+++/+++	+++ 3 Größen
12 ⁰⁰	1'12	2'30	5/15/25	0,8	6,75	dunkelbraun	aromatisch	leicht viskös	++-/++-	+++ 3
14 ⁰⁰ Fütterung: gemischte Ration										
14 ⁰⁰	25"	58"	5/10/15	1,4	6,68	dunkelbraun	aromatisch	leicht viskös	+++/++-	+++ 3
1. Tag										
6 ⁰⁰ Fütterung: gemischte Ration										
8 ¹⁵	32"	1'09	5/10/20	1,7	6,61	dunkelbraun	aromatisch	leicht viskös	++-/++-	+++ 3
12 ⁰⁰	1'36	1'53	5/15/25	0,6	6,83	dunkelbraun	aromatisch	leicht viskös	++-/++-	+++ 3
14 ⁰⁰ Fütterung: Stroh ad libitum										
14 ⁰⁰	1'24	2'26	5/25/35	0,8	7,05	mittelbraun	stinkend	leicht viskös	++-/++-	+++ 3
2. Tag										
8 ¹⁵	3'48	4'13	10/60	0,5	7,09	mittelbraun	indifferent	wässrig	++-/++-	++ 3
12 ⁰⁰	5'42	6'12	20'	0,1	7,24	hellbraun	stehend	wässrig	++-/++-	++ 3
15 ⁴⁵	6,23	7'48	40'	0,1	7,17	hellbraun	fade	wässrig	++-/++-	++ 3
3. Tag										
8 ¹⁵	9'50	12'53	55"	-	7,11	gelbbraun	fade	wässrig	++-/++-	+ 2
12 ⁰⁰	15'52	17'48	70"	-	7,17	gelbbraun	stinkend	wässrig	++-/++-	+ 2
13 ⁰⁰ Fütterung: 2,0 kg Sojaschrot + Stroh										
13 ⁰⁰	1'38	2'10	25'	0,1	7,02	gelbbraun	fade	wässrig	++-/++-	+ 2
4. Tag										
8 ¹⁵	2'46	3'53	25'	0,1	7,10	milchiggelb	säuerlich	wässrig	++-/++-	+ 2
9 ⁰⁰ Fütterung: 1,5 kg Sojaschrot + Stroh										
12 ⁰⁰	1'	1'28	15/20	0,4	6,67	milchiggelb	säuerlich	wässrig	++-/++-	+ 2
15 ⁴⁵	1'42	2'37	20'	0,2	6,84	milchiggelb	säuerlich	wässrig	++-/++-	++ 3
16 ³⁰ Fütterung: 1,5 kg Sojaschrot + Stroh										
16 ³⁰	1'15	2'42	15/30	0,4	6,91	milchigbraun	säuerlich	wässrig	++-/++-	++ 3
5. Tag										
8 ¹⁵	1'15	2'42	15/30	0,4	6,91	milchigbraun	säuerlich	wässrig	++-/++-	++ 3
9 ⁰⁰ Fütterung: gemischte Ration										
12 ⁰⁰	35"	1'02	5/25/55	0,7	6,76	milchigbraun	säuerlich	wässrig	++-/++-	++ 3
14 ⁰⁰ Fütterung: gemischte Ration										
14 ⁰⁰	57"	1'58	5/15/25	0,6	6,78	milchigbraun	säuerlich	wässrig	++-/++-	++ 3
6. Tag										
6 ⁰⁰ Fütterung: gemischte Ration										
8 ¹⁵	28"	56"	5/10/20	1,2	6,83	mittelbraun	säuerlich	leicht viskös	++-/++-	++ 3
12 ⁰⁰	1'02	2'10	5/10/20	0,8	6,87	mittelbraun	säuerlich	leicht viskös	++-/++-	+++ 3
14 ⁰⁰ Fütterung: gemischte Ration										
14 ⁰⁰	42"	1'33	5/10/15	0,9	6,83	dunkelbraun	säuerlich	leicht viskös	++-/++-	+++ 3

Mb = Methyleneblau, Res = Resazurin, Nit = Nitrit Sed = Sedimentation, Flot = Flotation

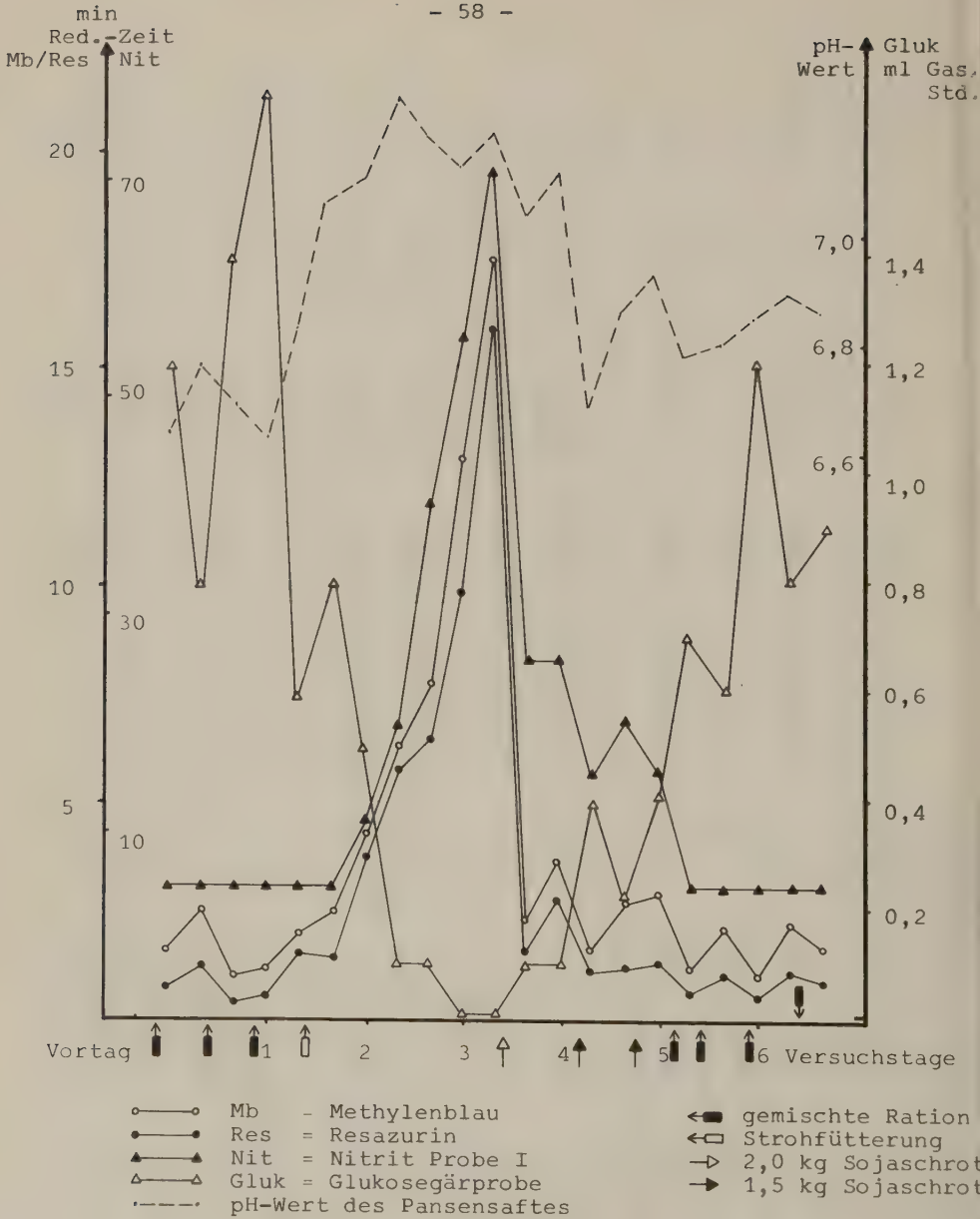


Abbildung 10: Verlauf der Reduktionsproben mit Methylenblau, Resazurin und Nitrit, Gasbildung und pH-Wert bei Inaktivierung der Pansenflora durch Strohfütterung und anschließender Schrotzulage beim Rind. Versuch 2

Tabelle 13: Ausfall der Reduktionsproben mit Methylenblau, Resazurin und Nitrit, der Glukosegarprobe sowie pH-Wert bei Inaktivierung der Vormagenflora durch Strohfütterung beim Kind. Versuch 3

Ver- suchs- tag	Uhr- zeit	Res.-Red. min	Mb.-Red. min	Nit.-Red. min	Glukose- garprobe I/II/III ml Gas/Std.	pH- Wert	Farbe	Geruch	Konsistenz	Sed/Flot	Infusorien
1. Tag	6 ⁰⁰	Fütterung:	gemischte Ration								
	8 ¹⁵	22"	45"	5/15/20	0,9	6,63	dunkelbraun	aromatisch	leicht viskös	++/++-	+++ 3 Größen
	12 ⁰⁰	44"	1'37	5/15/25	0,6	6,78	dunkelbraun	aromatisch	leicht viskös	++/++-	+++ 3
	14 ⁰⁰	Fütterung:	Stroh ad libitum								
2. Tag	14 ⁴⁵	1'33	2'59	5/35/50	0,4	6,76	mittelbraun	schwach aroma- tisch	etwas viskös	++-/++-	++ 3
	8 ¹⁵	2'18	3'18	15"	0,1	7,18	hellbraun	indifferent	wässrig	++-/---	++ 3
	12 ⁰⁰	3'48	5'57	20"	0,1	7,03	gelbraun	indifferent	wässrig	++-/++-	+ 2
	15 ⁴⁵	4'27	6'35	30"	0,1	7,16	gelbraun	fade	wässrig	++-/---	+ 2
3. Tag	8 ¹⁵	8'45	12'	55"	-	7,24	gelbraun	fade	wässrig	++-/---	+ 2
	12 ⁰⁰	16'48	23'31	95"	-	7,18	gelbraun	fade	wässrig	++-/---	+ 2
	13 ⁰⁰	Fütterung:	2,0 kg Sojaschrot + Stroh								
	15 ⁴⁵	2'	2'41	20"	0,1	6,94	milchiggelb	säuerlich	wässrig	++-/---	+ 2
4. Tag	8 ⁰⁰	3'03	4'15	25"	0,1	7,06	milchiggelb	säuerlich	wässrig	++-/---	+ 2
	9 ⁰⁰	Fütterung:	1,5 kg Sojaschrot + Stroh								
	12 ⁰⁰	56"	1'30	15/35	0,4	6,70	milchiggrau	säuerlich	wässrig	++-/---	+ 2
	15 ⁴⁵	1'21	2'	20/45	0,2	6,82	milchiggelb	säuerlich	wässrig	++-/++-	+ 2
5. Tag	16 ³⁰	Fütterung:	1,5 kg Sojaschrot + Stroh								
	8 ¹⁵	46"	1'15	10/35	0,4	6,71	milchiggelb	säuerlich	wässrig	++-/++-	++ 3
	9 ⁰⁰	Fütterung:	gemischte Ration								
	12 ⁰⁰	40"	1'20	10/25/40	0,6	6,59	milchiggelb	säuerlich	wässrig	++-/++-	++ 3
14 ⁰⁰	Fütterung:	gemischte Ration									
	15 ⁴⁵	50"	1'30	5/20/35	0,7	6,64	mittelbraun	säuerlich	etwas viskös	++-/++-	++ 3

Mb = Methylenblau
Res = Resazurin
Nit = Nitrit
Sed = Sedimentation
Flot = Flotation

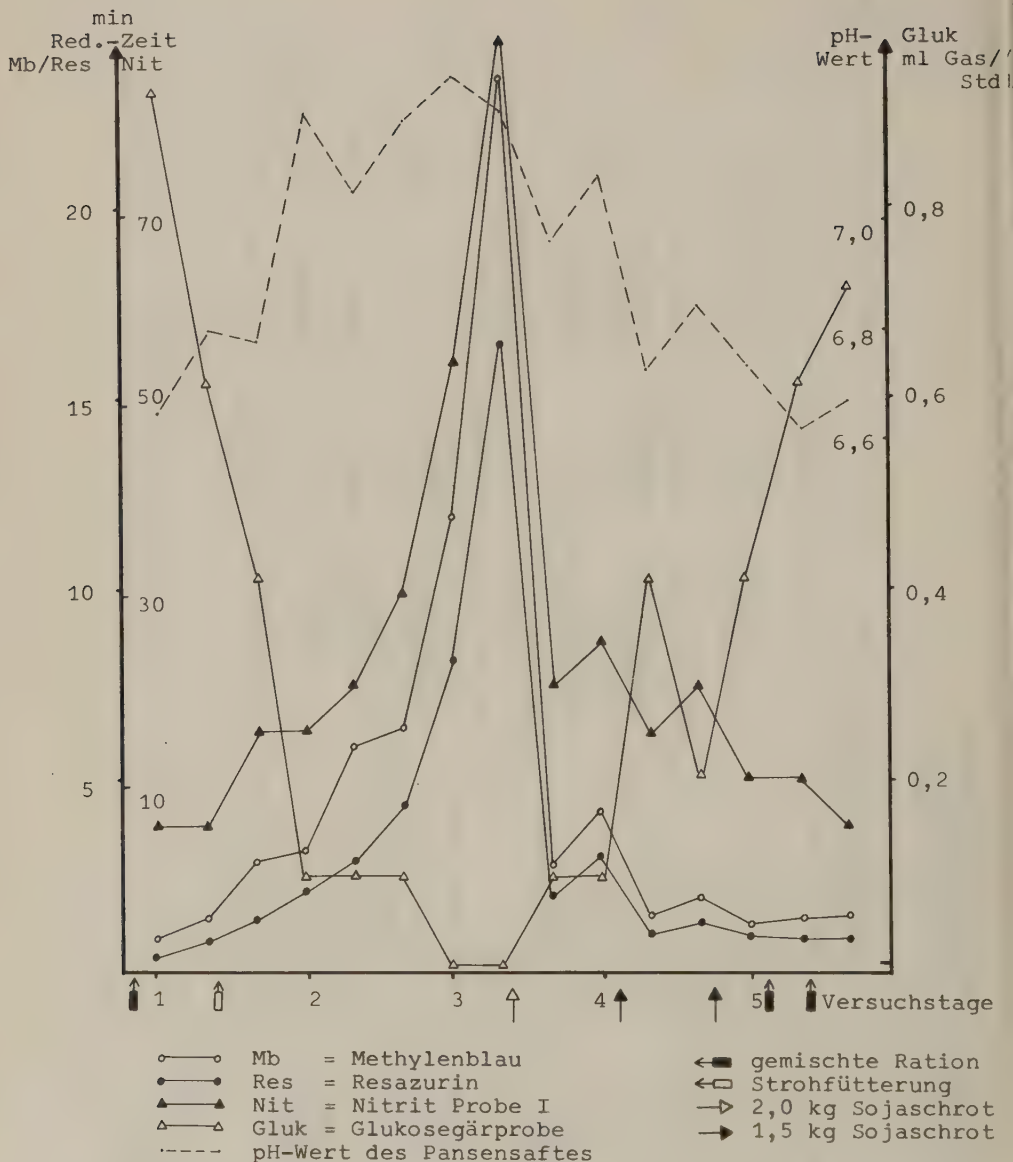


Abbildung 11: Verlauf der Reduktionsproben mit Methylenblau, Resazurin und Nitrit, Gasbildung und pH-Wert bei Inaktivierung der Pansenflora durch Strohfütterung und anschließender Schrotzulage beim Rind. Versuch 3

Tabelle 14: Ausfall der Reduktionsproben mit Methylenblau, Resazurin und Nitrit, der Glukosegärprobe sowie pH-Wert bei Inaktivierung der Vormagenflora durch Strohfütterung beim Rind. Versuch 4

Ver- suchs- zeit tag	Uhr- zeit	Res.-Red. min	Mb.-min	Nit.-Red. min	Glukose- gärprobe I/II/III ml Gas/Std.	pH- Wert	Farbe	Geruch	Konsistenz	Sed/Plot	Infusorien
1. Tag	6 ⁰⁰	Fütterung:	gemischte Ration								
	8 ¹⁵			1'15	10/20/30	1,2	6,43 mittelbraun	aromatisch	leicht viskös	++/+++	+++ 3 Größen
	12 ⁰⁰	1'25	2'10	10/25/35	0,5	6,68	mittelbraun	aromatisch	leicht viskös	++/+++	+++ 3
	14 ⁰⁰	Fütterung:	gemischte Ration								
	15 ⁴⁵	30"	50"	10/15/25	1,4	6,57	mittelbraun	aromatisch	leicht viskös	++/+++	+++ 3
2. Tag	6 ⁰⁰	Fütterung:	gemischte Ration								
	8 ¹⁵	35"	1'	10/20/25	1,5	6,61	mittelbraun	aromatisch	leicht viskös	++/+++	+++ 3
	12 ⁰⁰	55"	1'57	10/20/30	1,2	6,73	mittelbraun	aromatisch	leicht viskös	++/+++	+++ 3
	14 ⁰⁰	Fütterung:	Stroh ad libitum								
	15 ⁴⁵	1'29	3'04	15/25/50	0,8	6,85	hellbraun	schwach aroma- tisch	leicht viskös	++/+++	++ 3
3. Tag	8 ¹⁵	5'44	5'10	20"	0,3	7,50	gelbbraun	indifferent	wässrig	++/+++	++ 3
	12 ⁰⁰	4'54	6'12	25"	0,2	7,43	gelbbraun	indifferent	wässrig	++/+++	++ 3
	15 ⁴⁵	7'15	7'20	30"	+	7,42	gelbbraun	fade	wässrig	++/+++	+ 2
	8 ⁰⁰	11'30	12'	50"	+	7,56	graubraun	stinkend	wässrig	---/---	+ 2
	12 ⁰⁰	16'04	17'57	80"	-	7,36	gelbbraun	stinkend	wässrig	---/---	+ 2
4. Tag	13 ⁰⁰	Fütterung:	2,0 kg Sojaschrot + Stroh								
	15 ⁴⁵	2'08	2'33	25"	+	7,08	gelbbraun	fade	wässrig	++/---	+ 2
	8 ¹⁵	2'	3'31	30"	0,1	7,20	milchiggelb	säuerlich	wässrig	++/---	+ 2
	9 ⁰⁰	Fütterung:	1,5 kg Sojaschrot + Stroh								
	12 ⁰⁰	51"	1'17	15/30/50	0,5	6,81	milchiggelb	säuerlich	wässrig	++/---	+ 2
5. Tag	15 ⁴⁵	1'06	1'56	15/35	0,4	7,03	milchiggrau	säuerlich	wässrig	++/---	+ 2
	16 ³⁰	Fütterung:	1,5 kg Sojaschrot + Stroh								
	8 ¹⁵	49"	1'03	10/30/55	0,6	7,0	milchiggelb	säuerlich	wässrig	++/---	+ 2
	9 ⁰⁰	Fütterung:	gemischte Ration								
	12 ⁰⁰	30"	52"	10/30/60	0,4	6,52	milchigbraun	säuerlich	etwas viskös	++/---	++ 3
6. Tag	14 ⁰⁰	Fütterung:	gemischte Ration								
	15 ⁴⁵	32"	1'09	10/25/45	0,4	6,61	mittelbraun	säuerlich	etwas viskös	++/---	++ 3
	6 ⁰⁰	Fütterung:	gemischte Ration								
	8 ¹⁵	32"	59"	10/20/35	0,6	6,54	mittelbraun	säuerlich	leicht viskös	++/---	++ 3
	12 ⁰⁰	1'12	2'12	10/30/45	0,5	6,67	mittelbraun	säuerlich	leicht viskös	++/---	++ 3
7. Tag	14 ⁰⁰	Fütterung:	gemischte Ration								
	15 ⁴⁵	27"	1'01	10/20/30	0,8	6,60	mittelbraun	säuerlich	leicht viskös	++/---	+++ 3

Mb = Methylenblau, Res = Resazurin, Nit = Nitrit Sed = Sedimentation, Plot = Plotation

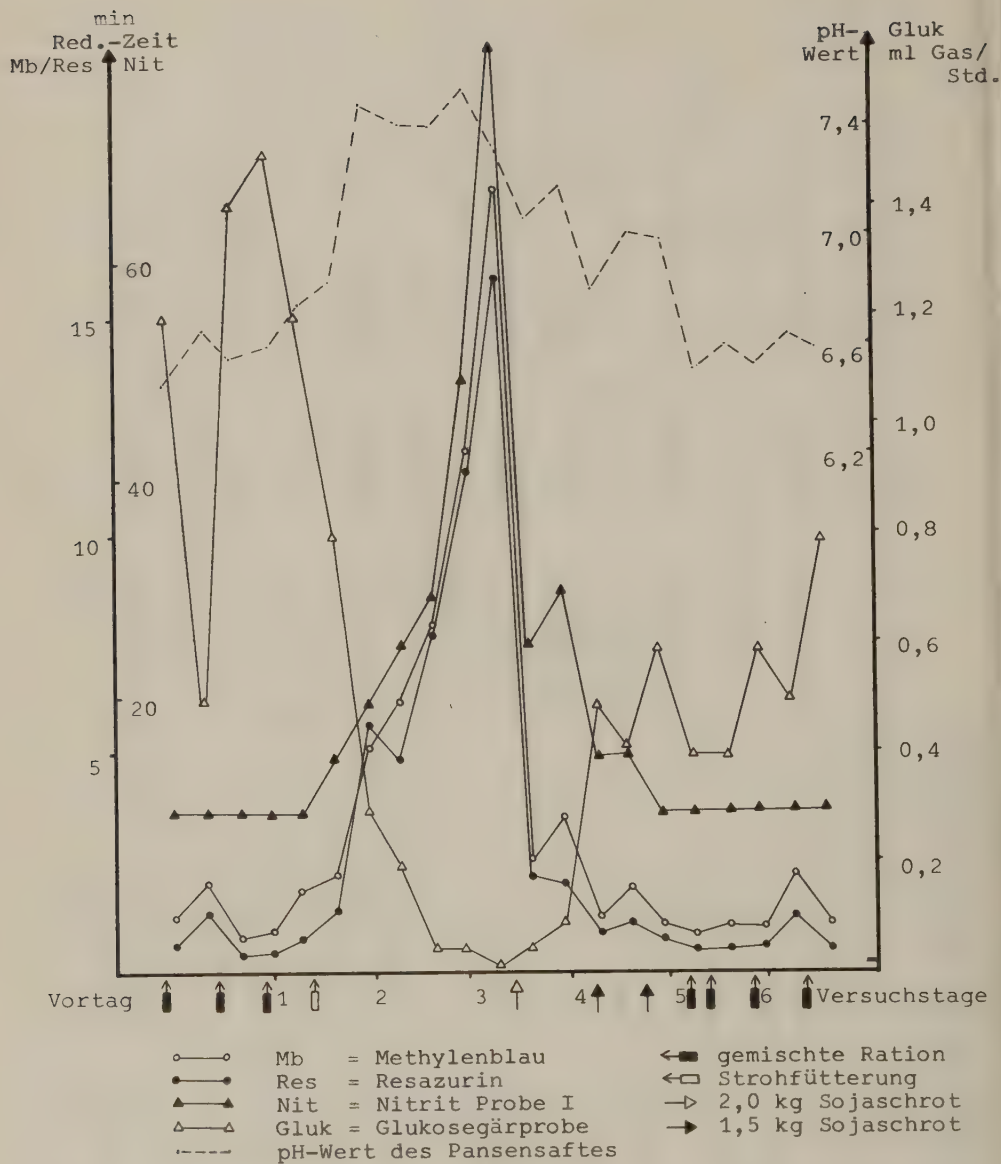


Abbildung 12: Verlauf der Reduktionsproben mit Methylenblau, Resazurin und Nitrit, Gasbildung und pH-Wert bei Inaktivierung der Pansenflora durch Strohütterung und anschließender Schrotzulage beim Rind. Versuch 4

Tabelle 15: Ausfall der Reduktionsproben mit Methylenblau, Resazurin und Nitrit, der Glukosegärprobe sowie wie pH-Wert bei Inaktivierung der Vormagenflora durch Strohfütterung beim Rind. Versuch 5

Ver- suchs- tag	Uhr- zeit	Res.-Red. min	Mb.-Red. min	Nit.-Red. min; Probe 1/11/111	Glukose- gärprobe Wert ml Gas/Std.	Farbe	Geruch	Konsistenz	Sed./Flot	Infusorien
1. Tag										
6 ⁰⁰	Fütterung:	gemischte Ration								
8 ¹⁵	15	35"	1'15	10/15/20	1,4	6,53	dunkelbraun	leicht viskös	+++	3 Größen
12 ⁰⁰	52"	1'53	10/20/30	0,8	6,72	mittelbraun	aromatisch	leicht viskös	+++	3
14 ⁰⁰	Fütterung:	gemischte Ration								
15 ⁴⁵	30"	1'03	10/15/20	1,5	6,64	dunkelbraun	aromatisch	leicht viskös	+++	3
2. Tag										
6 ⁰⁰	Fütterung:	gemischte Ration								
8 ¹⁵	23"	43"	10/15/20	1,2	6,64	mittelbraun	aromatisch	leicht viskös	+++	3
12 ⁰⁰	57"	1'57	10/20/30	0,4	6,78	mittelbraun	aromatisch	leicht viskös	+++	3
14 ⁰⁰	Fütterung:	Stroh ad libitum								
15 ⁴⁵	59"	2'03	10/25/40	0,6	6,82	hellbraun	schwach aroma- tisch	leicht viskös	+++	3
3. Tag										
8 ¹⁵	2'	3'18	20"	0,3	7,54	hellbraun	schwach aromat.	wässrig	+++	2
12 ⁰⁰	5'	5'24	25"	0,3	7,45	gelbbraun	indifferent	wässrig	+++	2
15 ⁴⁵	7'08	7'11	30"	0,1	7,55	gelb	indifferent	wässrig	+++	2
4. Tag										
8 ¹⁵	11'30	13'33	70"	-	7,35	gelbbraun	fade	wässrig	+++	2
12 ⁰⁰	15'19	15'19	85"	-	7,21	gelbbraun	stinkend	wässrig	+++	2
15 ⁴⁵	Fütterung:	2,0 kg Haferschrot + Stroh								
16 ³⁰	2'18	2'53	10/55	0,1	7,05	milchiggelb	säuerlich	wässrig	+++	2
5. Tag										
8 ¹⁵	4'33	6'10	35"	0,2	7,14	milchiggrau	säuerlich	wässrig	+++	2
12 ⁰⁰	Fütterung:	1,5 kg Haferschrot + Stroh								
15 ⁴⁵	1'32	2'05	15"	0,1	6,78	milchiggelb	säuerlich	wässrig	+++	2
16 ³⁰	2'	2'25	20"	0,1	6,92	milchiggelb	säuerlich	wässrig	+++	2
6. Tag										
8 ¹⁵	Fütterung:	1,5 kg Haferschrot + Stroh								
12 ⁰⁰	49"	1'34	10/25	0,5	7,11	milchiggelb	säuerlich	wässrig	+++	2
15 ⁴⁵	Fütterung:	gemischte Ration								
16 ³⁰	49"	1'38	10/25	0,6	6,74	milchiggrau	säuerlich	wässrig	+++	2
7. Tag										
8 ¹⁵	Fütterung:	gemischte Ration								
12 ⁰⁰	36"	1'17	10/15/25	0,8	6,75	mittelbraun	säuerlich	leicht viskös	+++	3
15 ⁴⁵	47"	1'24	10/20/30	0,5	6,78	mittelbraun	schwach aroma- tisch	leicht viskös	+++	3
8. Tag										
8 ¹⁵	Fütterung:	gemischte Ration								
12 ⁰⁰	32"	1'10	10/15/20	1,0	6,67	mittelbraun	säuerlich	leicht viskös	+++	3

Mb = Methylenblau, Res = Resazurin, Nit = Nitrit Sed = Sedimentation, Flot = Flotation

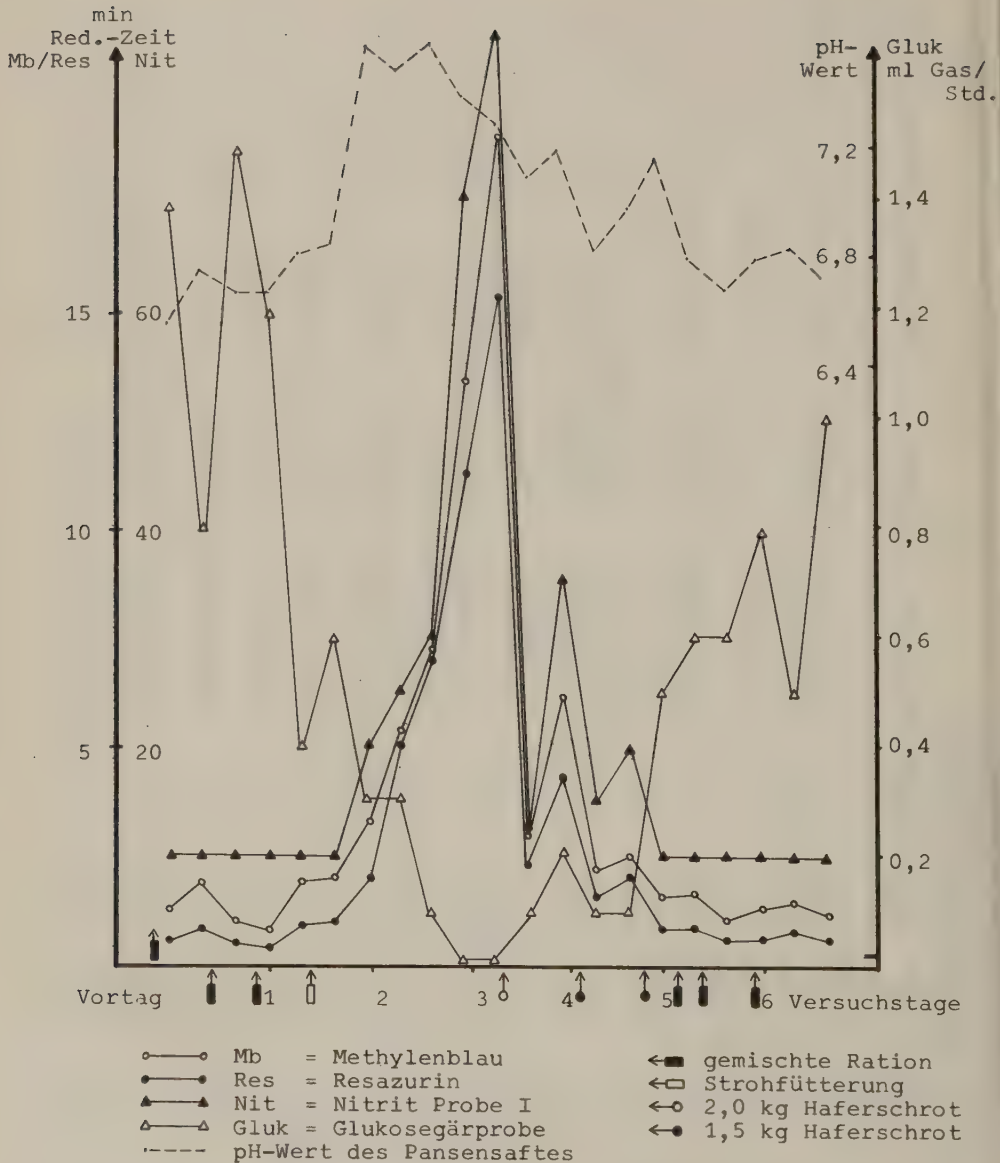


Abbildung 13: Verlauf der Reduktionsproben mit Methylenblau, Resazurin und Nitrit, Gasbildung und pH-Wert bei Inaktivierung der Pansenflora durch Strohütterung und anschließender Schrotzulage beim Rind. Versuch 5

Tabelle 16: Ausfall der Reduktionsproben mit Methylenblau, Resazurin und Nitrit, der Glukosegarprobe sowie pH-Wert bei Inaktivierung der Vormagenflora durch Strohütterung beim Rind. Versuch 6

Ver- suchs- tag	Uhr- zeit	Res.-Red. min	MB.-Red. min	Nit.-Red. min, Probe I/II/III	Glukose- garprobe ml Gas/Std.	pH- Wert	Farbe	Geruch	Konsistenz	Sed/Plot	Infusorien
1. Tag	8 ⁰⁰	Fütterung: gemischte Ration									
	15	26"	53"	5/20/25	1,0	6,18	Mittelbraun	aromatisch	leicht viskös	++/+++	+++ 3 Größen
	12 ⁰⁰	27"	59"	5/15/25	0,7	6,25	Mittelbraun	aromatisch	leicht viskös	++/+++	+++ 3
2. Tag	14 ⁰⁰	Fütterung: Stroh ad libitum									
	15 ⁴⁵	1'05	1'59	10/25/40	0,8	6,55	Mittelbraun	schwach arom.	leicht viskös	++/+++	+++ 3
	8 ¹⁵	5'09	2'57	15/55	0,5	7,40	dunkelbraun	schwach arom.	leicht viskös	++/+++	++ 3
3. Tag	12 ⁰⁰	3'11	4'03	20'	0,4	7,55	Mittelbraun	indifferent	etwas viskös	++/+++	++ 3
	15 ⁴⁵	3'41	5'26	25'	0,2	7,69	hellbraun	indifferent	wässrig	++/+++	++ 2
	8 ¹⁵	9'14	12'	70'	-	7,59	gelbbraun	indifferent	wässrig	++/+++	+ 2
4. Tag	12 ⁰⁰	18'	18'43	90'	-	7,49	gelbbraun	fade	wässrig	++/+++	+ 2
	13 ⁰⁰	Fütterung: 2,0 kg Haferschrot + Stroh									
	15 ⁴⁵	1'57	2'03	10/35/55	+	7,21	milchiggelb	säuerlich	wässrig	++/+++	+ 3
5. Tag	8 ¹⁵	3'49	4'47	35'	0,1	6,96	milchiggelb	säuerlich	wässrig	++/+++	+ 3
	9 ⁰⁰	Fütterung: 1,5 kg Haferschrot + Stroh									
	12 ⁰⁰	56"	1'40	15/40	0,1	6,08	milchiggrau	säuerlich	wässrig	++/+++	+ 3
6. Tag	15 ⁴⁵	1'30	3'10	20/55	0,1	6,14	milchiggrau	säuerlich	wässrig	++/+++	+ 3
	16 ³⁰	Fütterung: 1,5 kg Haferschrot + Stroh									
	8 ¹⁵	1'38	2'02	15/40	0,5	7,10	milchiggelb	säuerlich	wässrig	++/+++	+ 3
7. Tag	9 ⁰⁰	Fütterung: gemischte Ration									
	12 ⁰⁰	1'02	1'35	10/35/55	0,2	6,81	milchiggelb	säuerlich	wässrig	++/+++	++ 3
	14 ⁰⁰	Fütterung: gemischte Ration									
	15 ⁴⁵	31"	1'	10/30/50	0,4	6,24	milchiggelb	stechend	wässrig	++/+++	++ 3

Res = Resazurin
Mb = Methylenblau
Nit = Nitrit
Sed = Sedimentation
Plot = Flotation

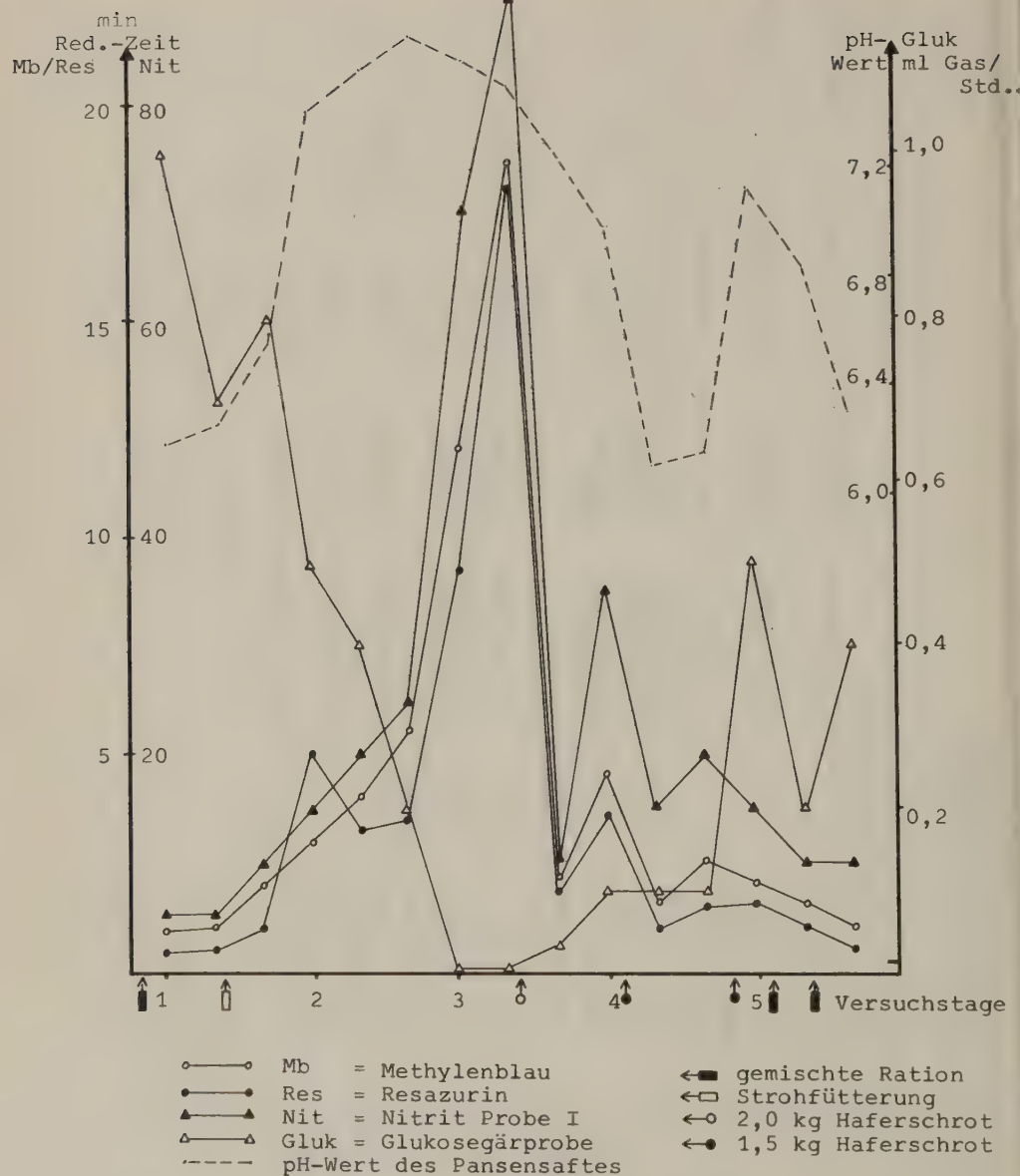


Abbildung 14: Verlauf der Reduktionsproben mit Methylenblau, Resazurin und Nitrit, Gasbildung und pH-Wert bei Inaktivierung der Pansenflora durch Strohütterung und anschließender Schrotzulage beim Rind. Versuch 6

Vergleich der Reduktionsproben mit Methylenblau, Resazurin und Nitrit und der Glukosegärprobe bei Reaktivierung der Vormagenflora durch Zulage von Soja- oder Haferschrot

Bei den Versuchen zur Inaktivierung der Pansenflora durch Strohütterung wurde das Ausmaß der Reaktivierung nach Hafer- und Sojaschrotgabe verglichen. Bei den Reduktionsproben mit Methylenblau, Resazurin und Nitrit wurden diejenigen Werte gleich 100% gesetzt, die der Schrotzulage vorhergingen und ihre Verzögerung prozentual zu diesen Ausgangswerten bestimmt. Die dabei erhaltenen drei Werte für jede Schrotsorte wurden zu einem Mittelwert zusammengefaßt. Bei der Glukosegärprobe wurde die Gasmenge als Bezugswert gewählt und gleich 100% gesetzt, die jeweils nach der 3. Schrotfütterung am Morgen des 5. Versuchstages gemessen wurde.

Nach Zulage von Soja- oder Haferschrot verkürzten sich die Reduktionszeiten innerhalb von 2 3/4 Stunden im Mittel bei der

	Sojaschrot	Haferschrot
Resazurinreduktion um	88,3%	86,9%
Methylenblauprobe um	87,4%	87,1%
Nitritreduktion um	70,7%	83,5%

Bei der Glukosegärprobe wurde im gleichen Zeitraum ein Anstieg der Gasmenge von 0 auf 18,3% bei Sojaschrotgabe, auf 10% bei Haferschrotzulage gemessen. Der pH-Wert sank um 0,22 bzw. 0,18 pH-Einheiten.

Bei der Resazurin- und der Methylenblauprobe waren die Reduktionszeiten bei beiden Schrotsorten prozentual in etwa gleichem Ausmaß verkürzt. Auf die Nitritprobe bewirkte Haferschrot eine deutliche, kurzfristige Verkürzung der Reduktionszeiten, Sojaschrot zeigte eine schwächere, dafür länger anhaltende Wirkung.

Die bei der Glukosegärprobe gebildete Gasmenge stieg innerhalb von 23 Stunden nach Verabreichung von Sojaschrot von 0 im Mittel auf 0,4 ml Gas/Stunde an. Dieser Wert wurde nach Haferschrotgabe erst 20 Stunden später erreicht. Der pH-Wert fiel im Mittel nach Sojaschrotgabe stärker ab als nach Haferschrotfütterung.

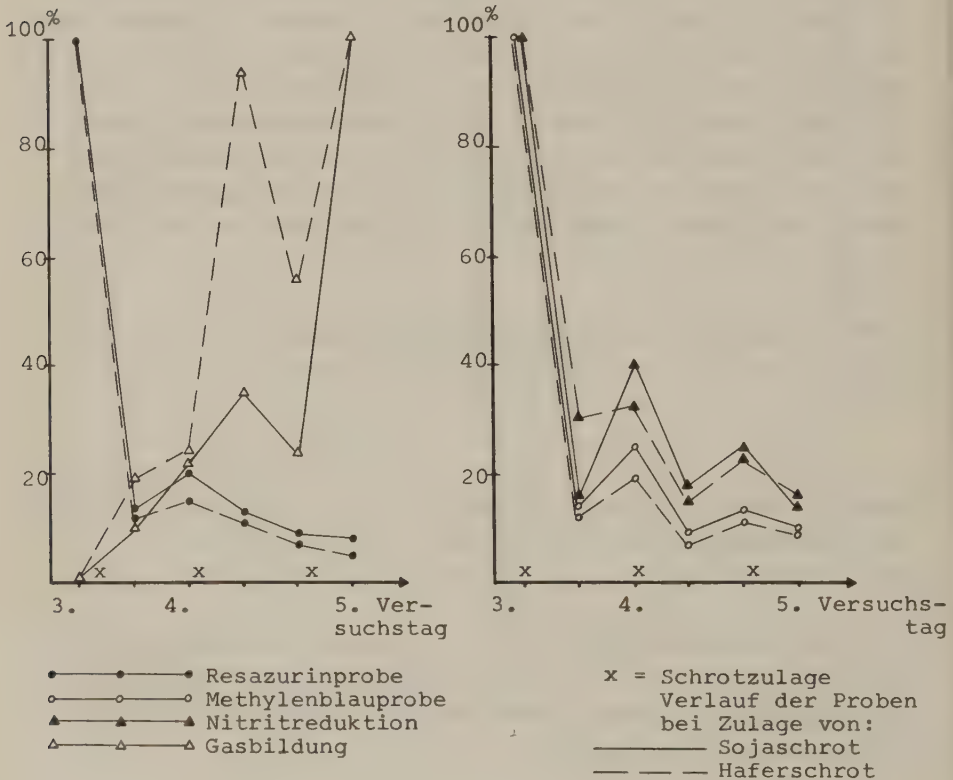


Abbildung 15: Ausfall der Reduktionsproben mit Methyleneblau, Resazurin und Nitrit sowie der Glukosegärprobe bei Reaktivierung der Vormagenflora vom Rind durch Schrotzulage. Angabe der Mittelwerte jeweils in Prozent des Ausgangswertes.

Vergleich des Ausfalls der Reduktionsproben mit Methylenblau, Resazurin und Nitrit und der Glukosegärprobe bei der Untersuchung von Pansensaft von klinisch gesunden Rindern

Bei 406 Pansensaftproben von klinisch gesunden Rindern wurden die Methylenblau-, die Resazurin- und die Nitritreduktionsprobe sowie die Glukosegärprobe gleichzeitig durchgeführt. Nach dem Ausfall der Methylenblauprobe wurden die Entfärbezeiten in zehn Bereiche eingeteilt. Die Stufen für Methylenblau umfassen jeweils einen Bereich von 30 Sekunden. Von den Werten einer Bereichsgruppe wurden das arithmetische Mittel $\bar{x}$ (in min), die Abweichung vom Mittelwert $\pm s$ (in min) und die Anzahl der Proben bestimmt. Diese Werte sind in Tabelle 17 zusammengefaßt.

Der Vergleich der Mittelwerte ergibt, daß mit steigenden Reduktionszeiten für Methylenblau auch die Entfärbedauer für Resazurin und Nitrit zunimmt, daß bei der Glukosegärprobe immer weniger Gas gebildet wird.

Um die Beziehungen zwischen der Entfärbezeit für Methylenblau und der Reduktionsdauer für Resazurin und Nitrit, sowie zwischen der Reduktionsaktivität und dem Glukosegärvermögen zu untersuchen, wurden die Werte aus Tabelle 17 statistisch untersucht und verglichen:

1. Beziehung zwischen den Reduktionszeiten von Methylenblau und Resazurin bei der Untersuchung des Pansensaftes von klinisch gesunden Rindern

Die Beziehung zwischen der Methylenblauprobe und der mit Resazurin erwies sich als hoch signifikant. Die von M. RAKOW eingestellte Resazurinprobe verlief auch hier in etwa doppelt so schnell wie die mit Methylenblau:

$$\text{Res.- Red.} = 0,48 \text{ Mb.-Red.} + 5,43$$

$$r = 0,997$$

$$p < 0,1\%$$

Tabelle 17: Einteilung der Reduktionszeiten von Resazurin und Nitrit und der Gasbildung bei der Glukosegärprobe nach dem Ausfall der Methylenblauprobe bei der Untersuchung des Pansensaftes von klinisch gesunden Rindern. In Klammern die Abweichungen vom Mittelwert jeder Bereichsgruppe.

Bereichsgruppe der Mb.-Red. min	$\bar{x}$ Mb.-Red. sek	$\bar{x}$ Res.-Red. sek	$\bar{x}$ Nit.-Red. min Probe			$\bar{x}$ Glukosegär- probe ml Gas/Std.	n
			I/	II	III		
0 - 30"	27,0	15,0 (3,5)	7,5/ (5,5)	11,3/ (6,3)	16,3/ (6,3)	1,53 (0,19)	4
31"- 1'	51,1	28,7 (6,3)	7,0/ (4,9)	14,7/ (6,3)	22,7/ (10,4)	1,08 (0,49)	86
1' - 1'30"	77,8	42,1 (9,2)	7,4/ (2,9)	17,6/ (6,9)	26,5/ (9,8)	0,85 (0,60)	101
1'31"- 2'	105,3	55,9 (13,8)	8,4/ (4,1)	20,5/ (7,8)	30,8/ (10,5)	0,70 (0,35)	69
2' - 2'30"	137,2	76,0 (16,3)	8,7/ (4,1)	22,4/ (6,7)	31,9/ (9,3)	0,50 (0,25)	64
2'31"- 3'	165,3	87,6 (15,7)	10,9/ (4,8)	25,7/ (8,4)	40,1/ (9,5)	0,45 (0,22)	41
3' - 3'30"	195,2	99,5 (20,1)	11,8/ (4,8)	26,1/ (10,1)	38,3/ (14,7)	0,42 (0,23)	25
3'31"- 4'	226,5	119,0 (28,4)	14,2/ (8,6)	30,0/ (6,1)	47,0/ (11,5)	0,38 (0,21)	6
4' - 4'30"	246,7	117,3 (16,2)	12,5/ (2,9)	31,3/ (12,5)	41,7/ (18,9)	0,23 (0,15)	4
über 4'31"	367,5	180,0 (12,0)	15,8/ (4,9)	40,0/ (9,5)	60,0/ (0,0)	0,35 (0,18)	6

Mb = Methylenblau, Res = Resazurin, Nit = Nitrit, n = Anzahl der Proben
 $\bar{x}$ = Mittelwert der Bereichsgruppe

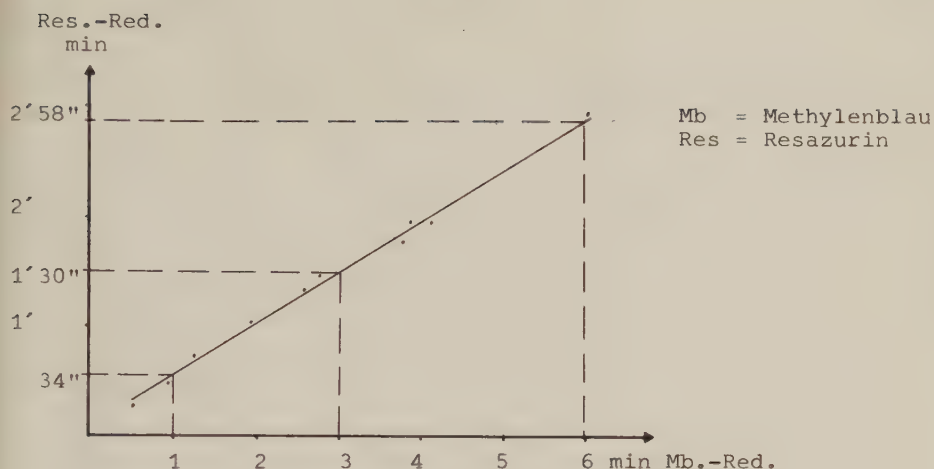


Abbildung 16: Beziehung zwischen den Reduktionszeiten von Methylenblau und Resazurin beim klinisch gesunden Rind

2. Beziehung zwischen den Reduktionszeiten von Methylenblau und Nitrit bei der Untersuchung des Pansensaftes von klinisch gesunden Rindern

Zwischen der Entfärbezeit für Methylenblau und dem Ausfall der Proben I bis III des Nitrittests wurden jeweils hoch signifikante Beziehungen ermittelt:

- | | | | | | |
|------------------|---|----------------|---|-------|-----------|
| a) Nit.-Red. I | = | 0,029 Mb.-Red. | + | 5,84 | r = 0,960 |
| b) Nit.-Red. II | = | 0,08 Mb.-Red. | + | 10,80 | r = 0,994 |
| c) Nit.-Red. III | = | 0,12 Mb.-Red. | + | 16,33 | r = 0,977 |

Mb.-Red. = Reduktionszeit von Methylenblau in Sekunden
 Nit = Nitrittest in Minuten
 I, II, III = Probe I, II und III des Nitrittests
 r = Korrelationskoeffizient

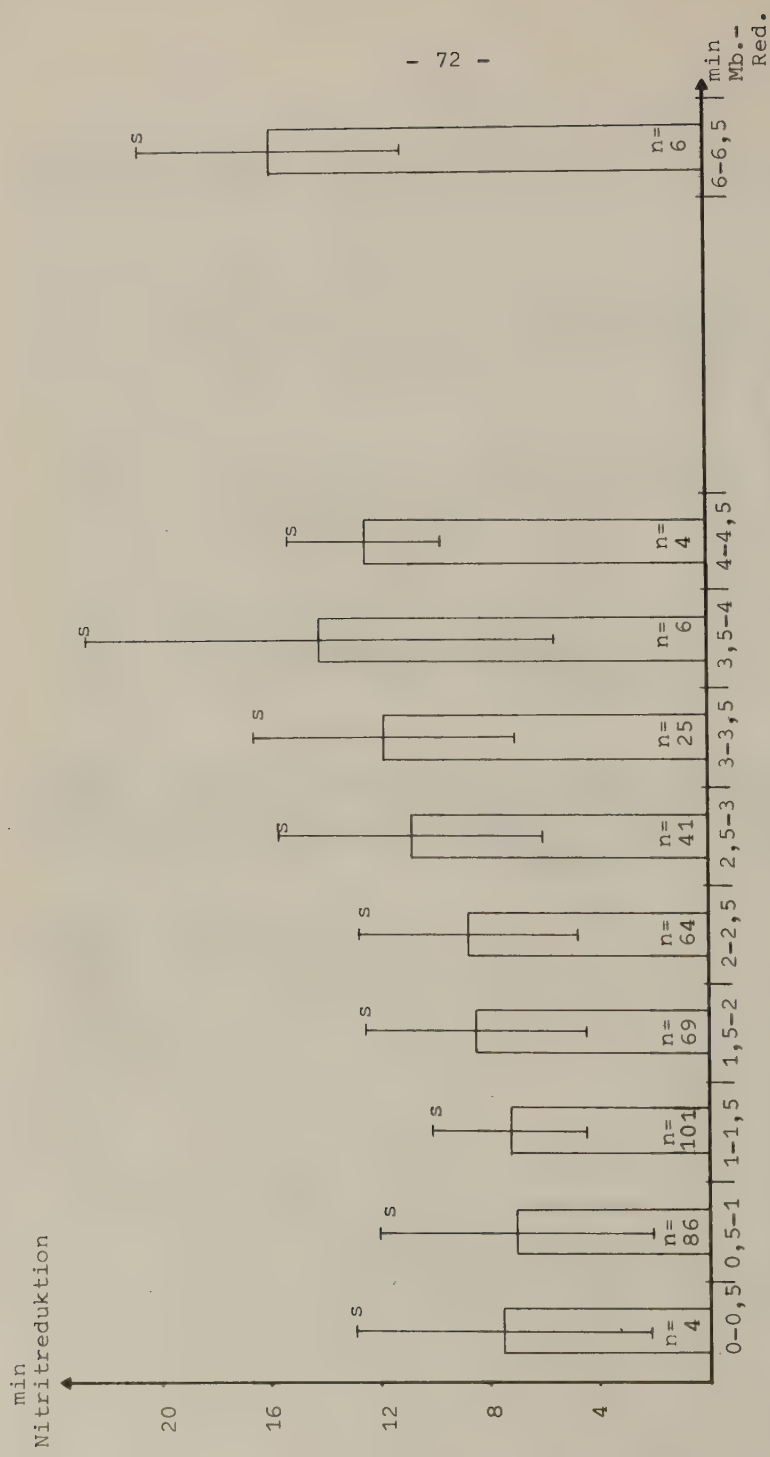


Abbildung 17: Beziehung zwischen der Methylenblauprobe und der Abbauezeit von Nitrit bei Pansenproben von klinisch gesunden Rindern.

Säulen = arithmetisches Mittel der Abbauezeit von Nitrit (Probe I) in min für einen bestimmten Zeitabschnitt der Methylenblauprobe.
Mb = Methylenblau, s = Standardabweichung vom Mittelwert, n = Anzahl der Proben

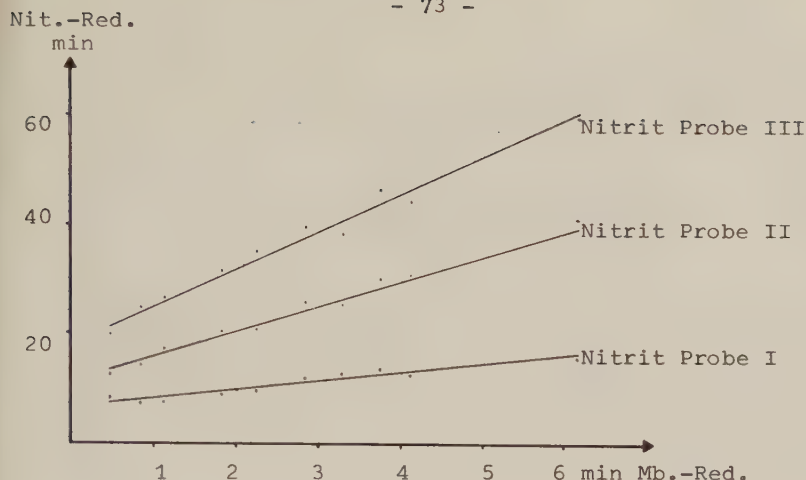


Abbildung 18: Beziehung zwischen den Reduktionszeiten von Methylenblau und Probe I - III der Nitritreduktion beim klinisch gesunden Rind

3. Beziehung zwischen der Reduktionszeit von Methylenblau und der bei der Glukosegärprobe gebildeten Gasmenge bei der Untersuchung des Pansensaftes von klinisch gesunden Rindern

Zwischen dem Ausfall der Glukosegärprobe und der Reduktionszeit für Methylenblau wurde eine hoch signifikante logarithmische Beziehung ermittelt. Bei dieser war die Irrtumswahrscheinlichkeit kleiner als bei der ebenfalls untersuchten linearen Beziehung.

a) Gasbildung als lineare Funktion der Entfärbezeit für Methylenblau:

$$\begin{aligned} \text{Gasbildung in ml Gas/Stunde} &= 1,16 - 0,003 \text{ Mb.-Red.} \\ r &= -0,817 & p < 1\% \end{aligned}$$

b) Gasbildung als logarithmische Funktion der Entfärbezeit für Methylenblau:

Gasbildung in ml Gas/Std. = $3 - 1,13 \log \text{Mb.-Red.}$

$r = -0,967$ $p < 0,1\%$

Mb. = Entfärbezeit für Methylenblau in Sekunden

r = Korrelationskoeffizient

p = Irrtumswahrscheinlichkeit in Prozent

So vermindert sich bei steigender Entfärbezeit für Methylenblau die Gasbildung bei der Glukosegärprobe in logarithmischer Funktion zur Methylenblauzeit. Diese Beziehung ist in den Abbildungen 19 und 20 dargestellt.

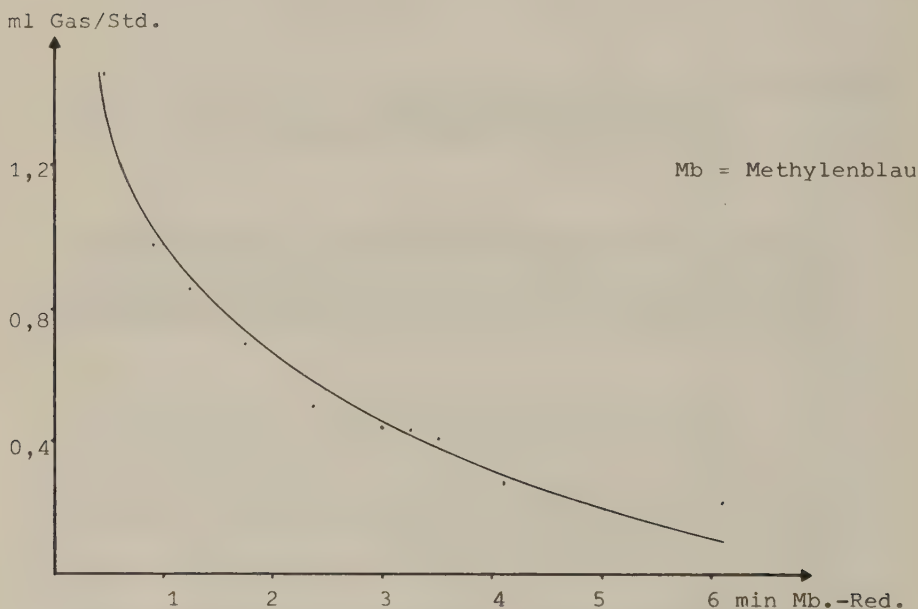


Abbildung 19: Beziehung zwischen der Reduktionszeit für Methylenblau und der Gasbildung bei der Glukosegärprobe beim klinisch gesunden Rind.

ml Gas/Std.

Mb = Methylenblau
s = Standardabweichung vom
Mittelwert
n = Anzahl der Proben

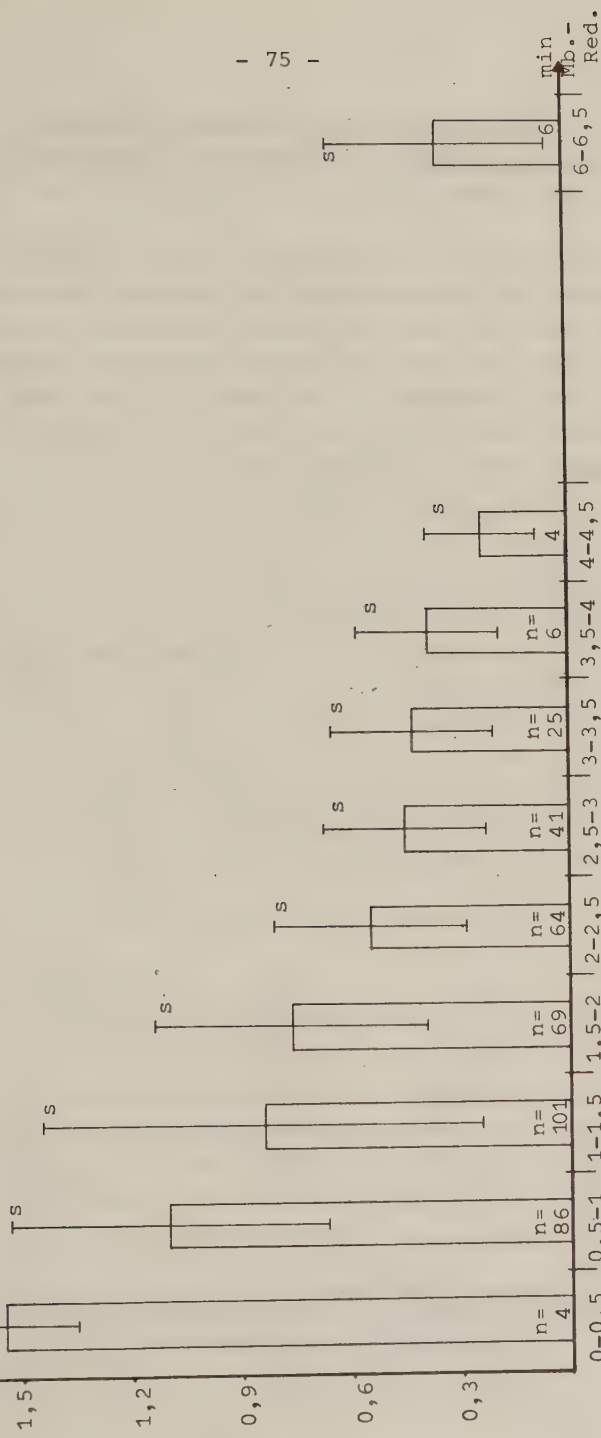


Abbildung 20: Beziehung zwischen der Methylenblaureduktion und der bei der Glukosegärprobe gebildeten Gasmenge bei Pansensaftproben von klinisch gesunden Rindern.
Säulen = arithmetisches Mittel der nach 60 Minuten gebildeten Gasmenge in ml für einen bestimmten Zeitabschnitt der Methylenblauprobe.

Vergleich der Reduktionszeiten für Methylenblau und Resazurin bei unterschiedlichen pH-Werten von frisch entnommenem Pansensaft des Rindes

Zur Darstellung der unterschiedlichen pH-Abhängigkeit der Reduktionsproben mit Methylenblau und Resazurin in der klinischen Pansensaftuntersuchung wurden 452 untersuchte Pansensaftproben vom Rind nach dem pH-Wert in Gruppen eingeteilt, die jeweils 0,2 pH-Einheiten umfaßten. Aus den Methylenblau- und den Resazurinentfärbezeiten jeder Gruppe wurde der Quotient q gebildet: $q = \frac{\text{Mb.-Zeit in Sekunden}}{\text{Res.-Zeit in Sekunden}}$.

Bei physiologischem pH benötigte die Methylenblaureduktion etwa doppelt so viel Zeit wie die mit Resazurin, was einem $q = 2$ entspricht. Bei erhöhtem pH wurde die Methylenblauprobe relativ schneller, der Resazurintest relativ langsamer, der Quotient q wurde kleiner und erreichte bei gleicher Entfärbezeit beider Proben den Wert 1. Damit zeigt sich, daß bei der Beurteilung des Methylenblau- und des Resazurintests in der klinischen Pansensaftuntersuchung der pH-Wert berücksichtigt werden muß, da bei unphysiologisch hohem pH die Reduktionsproben unterschiedliche Aussagen über den Aktivitätszustand des Vormageninhaltes machen können.

pH-Wert	q	n	Res.-Zeit bei 3 min Mb.-Zeit
5,6 - 5,8	2,17	9	1'23"
5,8 - 6,0	1,98	23	1'31"
6,0 - 6,2	1,96	37	1'32"
6,2 - 6,4	1,93	48	1'33"
6,4 - 6,6	1,91	89	1'34"
6,6 - 6,8	1,92	121	1'34"
6,8 - 7,0	1,81	49	1'39"
7,0 - 7,2	1,58	41	1'54"
7,2 - 7,4	1,41	21	2'08"
7,4 - 7,6	1,17	14	2'34"

Tabelle 18: Vergleich der Reduktionszeiten für Methylenblau und Resazurin bei unterschiedlichen pH-Werten von Pansensaft des Rindes.

$q = \text{Mb.-Zeit/Res.-Zeit}$

$n = \text{Anzahl der Proben}$

Mb = Methylenblau

Res = Resazurin

Verlauf der Reduktionsproben mit Methylenblau, Resazurin und Nitrit und der Glukosegärprobe bei der Untersuchung des Pansensaftes von Rindern mit herabgesetzter Aktivität des Vormageninhaltes

Von Patienten der Tierklinik mit verminderter Aktivität des Vormageninhaltes wurden 82 Pansensaftproben untersucht und ausgewertet. Die Ergebnisse wurden nach der Reduktionszeit für Methylenblau gruppiert und die zugehörigen Mittelwerte jeder Bereichsgruppe für die Resazurin- und die Nitritreduktion und die Glukosegärprobe bestimmt. Die einzelnen Werte sind aus Tabelle 19 ersichtlich.

Bei der Methylenblauprobe wurden bis zu 40 Minuten Entfärbedauer gemessen. Der Resazurintest verlief bei verminderter Aktivität und bei einfacher Inaktivität des Pansensaftes etwa doppelt so schnell, bei hochgradiger Inaktivität dauerte die Reduktion beider Farbstoffe etwa gleich lange.

Der Nitritabbau verzögerte sich bei steigenden Entfärbezeiten für Methylenblau auf Werte von 17 Minuten für Probe I und 26 Minuten für Probe II.

Die Reduktionsproben mit Methylenblau, Resazurin und Nitrit zeigten bei herabgesetzter Aktivität des Vormageninhaltes stets dessen gleiche Aktivitätsstufe an. Somit ist jede der drei Proben zur Erkennung verminderter Aktivität von Pansensaft anwendbar.

Bei der Glukosegärprobe wurden zwischen 0 und 1,1 ml Gasbildung/Stunde gemessen. Im Bereich 6 - 10 min Entfärbedauer von Methylenblau wurde im Mittel doppelt so viel Gas gebildet wie im Bereich 3 - 6 min. Zudem waren die Abweichungen vom Mittelwert innerhalb der einzelnen Gruppen so groß, daß nur von einer Tendenz gesprochen werden kann, daß mit steigenden Entfärbezeiten weniger Gas bei der Glukosegärprobe gebildet wird. Der Grund für diese divergierenden Werte könnte zum einen in der relativ geringen Anzahl der untersuchten Proben, zum anderen in der verschiedenartigen Fütterung der Tiere vor Einstellung in die Klinik zu finden sein.

Tabelle 19: Vergleich der Reduktionsproben mit Methylenblau, Resazurin und Nitrit und der Glukosegärprobe bei verminderter Aktivität des Vormageninhaltes von Rindern.

Mb.- Bereich min	$\bar{x}$ Mb.-Red. min	$\bar{x}$ Res.-Red min	$\bar{x}$ Nit.-Red. min, Probe I / II	$\bar{x}$ Glukose- gärprobe ml Gas/Std.	n
3' - 6'	4' 19"	2' 17" (1' 15")	11,7 / 22,5 (4,9) (14,0)	0,30 (0,24)	53
6' - 10'	6' 12"	3' 18" (1' 17")	12,0 / 22,9 (9,2) (12,4)	0,61 (0,54)	14
10' - 20'	12' 46"	11' 56" (4' 24")	16,7 / 24,0 (14,3) (4,5)	0,27 (0,28)	9
über 20'	39' 36"	38' 42" (14' 24")	16,9 / 26,7 (4,7) (5,7)	0,05 (0,10)	6

Mb = Methylenblau

Res = Resazurin

Nit = Nitrit

$\bar{x}$ = Mittelwert der Gruppe

() = Abweichung vom Mittelwert

n = Anzahl der Proben

BESPRECHUNG DER ERGEBNISSE

Die Versuchsergebnisse bestätigen weitgehend die Befunde von M. RAKOW (1975) und zeigen, daß der Resazurintest in enger Beziehung zur Methylenblauprobe steht und damit ebenfalls als Schnelltest für die klinische Pansensaftuntersuchung geeignet ist.

Die Versuche mit Senkung des pH-Wertes von aktivem Pansensaft in vitro mit Hilfe von Milchsäure ergaben, daß bis zu pH 6,0 eine Parallelität zwischen den Ergebnissen der Reduktionsproben mit Methylenblau, Resazurin und Nitrit und denen der Glukosegärprobe besteht. Bei weiterer pH-Senkung tritt in von Probe zu Probe unterschiedlichem Bereich eine sprunghafte Änderung der Meßergebnisse auf. Dieser Bereich wurde mit pH 5,6 - 6,0 für die Gasbildung, mit pH 5,2 - 5,4 für die Nitrit- und die Resazurinprobe, sowie mit pH 5,0 - 5,2 für die Methylenblauprobe bestimmt. Diese Ergebnisse zeigen gute Übereinstimmung mit den von HOLTENIUS (1957) und M. RAKOW (1975) erarbeiteten Werten.

Bei Alkalisierung von aktivem Pansensaft in vitro mit Hilfe von Natriumbikarbonat zeigte der Resazurintest eine größere Beeinflussung durch pH-Änderung als die Methylenblauprobe. Die Reduktionszeiten des Resazurins verlängerten sich mit steigenden pH-Werten deutlich, die Entfärbedauer von Methylenblau verringerte sich zunächst leicht und stieg dann langsam an. Diese Veränderungen waren jedoch für die Aussage unerheblich, da die Meßwerte stets innerhalb des ursprünglich angezeigten Aktivitätsbereiches blieben. Die Nitritreduktion verlief parallel zu der des Resazurins. Bei der Glukosegärprobe wurde mit steigendem pH immer weniger Gas gebildet.

Diese Vorversuche haben gezeigt, daß innerhalb des physiologischen pH-Bereiches von Pansensaft die Reduktionsproben mit Methylenblau, Resazurin und Nitrit sowie die Glukosegärprobe analog verlaufen und damit eine ähnliche pH-Abhängigkeit für alle vier Proben angenommen werden kann.

Bei Inaktivierung der Vormagenflora von Schafen und Rindern durch Strohütterung wurde in den Pansensaftproben ein gleichsinniger Verlauf der Reduktionsproben und der Glukosegärprobe ermittelt. Die Resazurinreduktion verlief weitgehend parallel zu der des Methylenblaus. Die Glukosegärprobe ließ stets als erste der Proben einen Aktivitätsabfall auf Tiefstwerte erkennen. Der Nitritabbau (Probe I) verzögerte sich prozentual zum Ausgangswert mit zunehmender Versuchsdauer in von Tier zu Tier unterschiedlichem Ausmaß im Vergleich zu den Reduktionszeiten für Methylenblau. Die Ursache für dieses abweichende Verhalten könnte in einer individuell unterschiedlichen Empfindlichkeit der nitritabbauenden Flora liegen. Außerdem ist zu berücksichtigen, daß der Nitrittest nur alle 5 Minuten auf das Vorhandensein von Nitrit geprüft wurde, während die Entfärbedauer von Methylenblau auf Sekunden genau bestimmt werden konnte. Dadurch können sich beim Vergleich beider Proben Abweichungen ergeben.

Beim Vergleich der Untersuchungsergebnisse, die bei Stroh- und bei Heufütterung bei Schafen gewonnen wurden, zeigte sich, daß die Resultate der Methylenblau- und der Resazurinprobe stets die gleiche Aussage über den Aktivitätszustand der Pansenflora machten. Die Ergebnisse des Nitrittests und der Glukosegärprobe stimmten jedoch nicht immer mit Methylenblau- und Resazurinprobe überein. So zeigten die Methylenblau- und die Resazurinprobe hochaktiven Pansensaft an, während gleichzeitig der Nitrittest in 18,3% und die Glukosegärprobe in 55,8% der untersuchten Proben Werte lieferten, die auf diese Tests bezogen als mäßig aktiv bis inaktiv bezeichnet werden mußten.

Die Breite des bei der Methylenblau- und der Resazurinprobe an der Oberfläche der Proben entstehenden Farbstreifens vergrößerte sich zwar mit zunehmenden Entfärbezeiten, jedoch wurden auch bei Inaktivität der Pansensaftproben sehr kleine Werte gemessen. So sprach eine Ringbreite von mehr als 3 mm gegen das Vorliegen von hochaktivem Vormageninhalt, eine geringere Breite sagte nichts über den Aktivitätszustand aus.

Die Verfütterung von Soja- oder Haferschrot an Rinder mit durch Strohfütterung inaktivierter Vormagenflora bewirkte deren schnelle Reaktivierung, die sich in einer gleichmäßigen Verkürzung der Reduktionszeiten von Methylenblau, Resazurin und Nitrit ausdrückte. Die Nitritreduktion verkürzte sich prozentual zum Ausgangswert nach Haferschrotzulage binnen 3 Stunden um 83,5% gegenüber 70,6% nach Verabreichung von Sojaschrot. Die Glukosegärprobe erreichte im Zuge der Reaktivierung der Vormagenflora stets als letzte der vier Proben ihre physiologischen Werte.

Bei der Untersuchung von hochaktiven Pansensaftproben klinisch gesunder Rinder ergab sich ein analoger Verlauf aller Proben. Ein Vergleich dieser Werte bestätigte, daß zwischen den einzelnen Proben untereinander, sowie zwischen der Methylenblaureduktion und der Glukosegärprobe statistisch gesicherte Beziehungen bestehen. So ließen sich bei gleichbleibender Fütterung und entsprechend hochaktivem Vormageninhalt nach dem Ausfall der Methylenblauprobe die Entfärbezeiten bei der Resazurin- und der Nitritreduktion und die bei der Glukosegärprobe zu erwartende Gasmenge in etwa abschätzen.

Bei experimentell erzeugter Inaktivität der Vormagenflora und bei Klinikpatienten mit gleichen Befunden waren die Beziehungen zwischen den Reduktionsproben und der Glukosegärprobe jedoch anders als bei hochaktiver Flora. So dauerte mit steigenden Entfärbezeiten für Methylenblau - wie erwartet - auch die Reduktion von Resazurin und Nitrit länger und die Gasbildung verminderte sich. Während bei hochaktiver Pansenflora die gebildete Gasmenge und die Nitritreduktionsdauer nicht immer dem Aktivitätsgrad der Methylenblau- und Resazurinprobe entsprachen, stimmten diese Ergebnisse jedoch in der Bewertung bei inaktiver Flora überein.

Insgesamt wurden 652 Pansensaftproben mit verschiedenen Aktivitätsgraden des Vormageninhaltes ausgewertet. Dabei stimmten die Aussagen der Methylenblau- und der Resazurin-

probe über den Aktivitätszustand des Pansensaftes bei 97,1% der untersuchten Proben überein. Beim Nitrittest bezeichneten 88,7%, bei der Glukosegärprobe nur 44,1% der Proben die gleiche Aktivitätsstufe des Vormageninhaltes wie die Methylenblauprobe.

Ein Vergleich der Ergebnisse mit denen anderer Autoren ergibt folgendes Bild:

Die für Methylenblau gefundenen Reduktionszeiten entsprachen den von DIRKSEN (1969), MAHLER (1970) und M. RAKOW (1975) ermittelten Werten. Ein Vergleich ist deshalb gut möglich, weil die Versuchsanordnung und die Untersuchungstechnik wie bei den genannten Autoren gewählt wurden.

Unterschiede zu den Ergebnissen von M. RAKOW (1975) traten bei der pH-Anhebung auf. Dort wird bei der graphischen Darstellung der Schnittpunkt der Methylenblau- mit der Resazurinkurve mit pH 7,4 angegeben, während er bei den eigenen Untersuchungen bei pH 7,1 lag.

Bei Strohütterung trat hochgradige Inaktivität der Vormagenflora bei den eigenen Versuchen nach 46 Stunden ein, gegenüber 52 Stunden bei DIRKSEN (1969) und bei MAHLER (1970), sowie 28 Stunden bei M. RAKOW (1975). Möglicherweise reagierte auf Grund der Vorbereitungsütterung die Pansenflora der eigenen Versuchstiere anders als in den Experimenten der oben genannten Untersucher.

In den eigenen Untersuchungen wurde als Grenzwert für hochaktiven Pansensaft mit einer Entfärbezeit von 1'30" für Resazurin der gleiche Wert wie von M. RAKOW ermittelt.

Die für den Nitrittest beobachteten Grenzwerte für hochaktiven Pansensaft lagen mit 11,06 min, 25,2 min und 37,9 min für die Proben I bis III höher als die in der Literatur angegebenen. HOLTENIUS, BJÖRCK und HOF LUND (1959) bestimmten Reduktionszeiten von 10, 20 und 30 Minuten für die Proben I bis III als Maximalzeiten.

Die eigenen Befunde sind nur bedingt mit denen von HOFIREK (1970, 1972) und JAGOS (1973) vergleichbar. Beide Autoren benutzten andere Mischungsverhältnisse zwischen Pansensaft

und Indikator und andere Verdünnungsstufen für Methylenblau und Resazurin. Auffallend ist dabei aber, daß mit Pansensaft von Schafen im Mittel längere Reduktionszeiten beobachtet wurden als mit Pansensaft von Rindern. Bei den eigenen Untersuchungen wurden die Redoxfarbstoffe durch Vormageninhalt von Schafen schneller reduziert als durch Pansensaft von Rindern mit gleicher Fütterung.

Zusammenfassend läßt sich die bearbeitete Fragestellung dahingehend beantworten, daß zwischen den Reduktionszeiten von Methylenblau, Resazurin und Nitrit und der bei der Glukosegärprobe gebildeten Gasmenge zwar statistisch gesicherte Beziehungen bestehen, die Relationen sind jedoch in den verschiedenen Aktivitätsstufen der Pansenflora nicht die gleichen.

Der Resazurintest verlief bis zu Entfärbezeiten von 10 Minuten etwa doppelt so schnell wie die Methylenblauprobe und drückte bei 97,1% der untersuchten Proben den gleichen Aktivitätszustand des Pansensaftes aus wie diese.

Der Nitrittest und die Glukosegärprobe machten teilweise andere Aussagen über die Aktivität des Vormageninhaltes als die Methylenblauprobe. So mußten Proben nach der Nitritabbauzeit und der Gasbildung als inaktiv beurteilt werden, die nach der Methylenblauprobe als hochaktiv zu beurteilen waren. Somit lassen sich nach dem Ausfall der Methylenblauprobe nicht generell die bei der Glukosegärprobe zu erwartende Gasmenge und die Nitritabbauzeit abschätzen.

Die Methylenblau- und die Resazurinprobe sind aussagekräftige Schnelltests, die zur Grobinformation über den Aktivitätszustand von Pansensaftproben genügen. Zur kompletten Untersuchung des Vormageninhaltes muß zusätzlich mit Spezialtests die eiweiß- und die glukoseverdauende Flora auf ihre Aktivität geprüft werden, da nach dem Ergebnis der Schnelltests der Ausfall dieser Spezialtests nicht mit ausreichender Sicherheit abgeschätzt werden kann.

ZUSAMMENFASSUNG

- 1.) An Pansensaftproben von Rindern und Schafen mit unterschiedlicher Aktivität des Vormageninhaltes sollte festgestellt werden, welche Beziehungen zwischen dem Ausfall der Reduktionsproben mit Methylenblau, Resazurin und Nitrit und der Glukosegärprobe bestehen.
- 2.) Mit einer Suspension aus lebenden Infusorien und physiologischer Kochsalzlösung wurden die Reduktionsproben und die Glukosegärprobe durchgeführt. Es erfolgte weder eine Reduktion noch eine nennenswerte Gasbildung.
- 3.) Versuche mit artefizieller Senkung des pH-Wertes von aktivem Pansensaft in vitro mit Hilfe von Milchsäure zeigten, daß bis pH 6,0 eine Parallelität der Ergebnisse der einzelnen Proben besteht. Bei weiterer pH-Senkung tritt in von Probe zu Probe unterschiedlichem Bereich eine sprunghafte Änderung der Meßwerte auf. Dieser Bereich liegt bei pH 5,6 - 6,0 für die Gasbildung, bei pH 5,2 - 5,4 für die Nitrit- und die Resazurinprobe und bei pH 5,0 - 5,2 für die Methylenblauprobe.
- 4.) Bei künstlicher Anhebung des pH-Wertes von aktivem Pansensaft in vitro mit Hilfe von Natriumbikarbonat verlängerten sich die Resazurinzeiten mit steigendem pH, die Werte der Methylenblauprobe verringerten sich zunächst leicht und stiegen dann langsam an. Die Abbauzeiten von Nitrit und die Gasbildung verliefen analog zum Resazurintest.
- 5.) Strohütterung an Rinder und Schafe führte zu einfacher bis hochgradiger Inaktivität des Vormageninhaltes und zeigte, daß mit steigenden Entfärbezeiten für Methylenblau die Reduktionsdauer von Resazurin und Nitrit analog verläuft und sich die Gasbildung bei der Glukosegärprobe vermindert.
- 6.) Bei Reaktivierung der Pansenflora durch Schrotzulage verliefen die Reduktionszeiten von Methylenblau, Resazurin und Nitrit weitgehend parallel. Eine gewisse Reihenfolge

in der Empfindlichkeit der Parameter bestand darin, daß die Glukosegärprobe stets als letzte der vier Proben ihre physiologischen Werte erreichte.

- 7.) Aus der Breite des bei der Methylenblau- und der Resazurinreduktion an der Oberfläche der Proben entstehenden blauen oder roten Ringes können insofern Rückschlüsse auf die Entfärbezeit gezogen werden, als eine Ringbreite von mehr als 3 mm gegen das Vorliegen von hochaktivem Pansensaft und somit für längere Reduktionszeiten als 3 min bei der Methylenblauprobe spricht.
- 8.) Der Vergleich zwischen den Reduktionszeiten von Methylenblau und Resazurin mittels Korrelationsrechnung ergab, daß zwischen den Ergebnissen beider Proben bei hochaktivem, vermindert aktivem und inaktivem Pansensaft hoch signifikante Beziehungen bestehen: die Resazurinreduktion verläuft im Mittel etwa doppelt so schnell wie die des Methylenblaus.
- 9.) Die Gegenüberstellung der Reduktionszeiten von Methylenblau und Nitrit läßt für die Proben I bis III der Nitritreduktion (mit 0,2 ml, 0,5 ml und 0,7 ml Natriumnitrit) hoch signifikante Beziehungen zur Entfärbedauer des Methylenblaus erkennen.
- 10.) Der Vergleich der Abhängigkeit der bei der Glukosegärprobe gebildeten Gasmenge von der Reduktionszeit des Methylenblaus mittels Korrelationsrechnung ergab eine hoch signifikante Beziehung: mit ansteigender Entfärbedauer verminderte sich die durchschnittlich gebildete Gasmenge in logarithmischer Funktion zur Reduktionszeit.
- 11.) Bei Tieren mit verminderter Aktivität und Inaktivität der Vormagenflora wurden mittels Korrelationsrechnung die Beziehungen zwischen den Ergebnissen der Reduktionsproben, sowie zwischen der bei der Glukosegärprobe gebildeten Gasmenge und der Dauer der Methylenblaureduktion ermittelt. Es bestanden zwar hoch signifikante Beziehungen zwischen der Methylenblauprobe, der Resazurinprobe, dem Nitrittest und der Gasbildung, jedoch wa-

ren diese nicht die gleichen, wie bei aktivem Vormageninhalt.

- 12.) Die Ergebnisse des Nitrittests und der Glukosegärprobe bezeichneten nicht immer die gleiche Aktivitätsstufe des Pansensaftes wie die Methylenblauprobe. Somit können aus dem Ausfall der Methylenblauprobe die Reduktionsdauer für Nitrit und die Gasbildung bei der Glukosegärprobe nicht mit genügender Sicherheit abgeschätzt werden.

SUMMARY

- 1.) Rumen fluid samples of cattle and sheep with different activity of rumen contents were observed, whether the reduction tests with methylene-blue, resazurin and nitrite and glucose fermentation test always express the same statement about the activity of the samples.
- 2.) Reduction tests and glucose fermentation test were made with a suspension of ruminal protozoa. Neither any reduction nor a considerable glucose fermentation were observed.
- 3.) Lowering the pH-value of active rumen fluid in vitro with lactic acid showed a parallel passage of the results of all tests down to pH 6,0. Further lowering yielded to desultory change for each test at different pH. These pH-values were found to be pH 5,6 - 6,0 for glucose fermentation, pH 5,2 - 5,4 for resazurin- and nitrite test and pH 5,0 - 5,2 for methylene-blue test.
- 4.) Artificially commencing the pH of active rumen fluid in vitro with sodium bicarbonate showed elongated resazurin reduction times with increasing pH, the results of the methylene-blue test first decreased and then slowly delayed, nitrite disappearance time and glucose fermentation took analogous course as the resazurin test.
- 5.) Simple to intense inactivity of rumen contents resulted in straw diet of cattle and sheep and showed, that with increasing reduction time of methylene-blue also reduction times of resazurin and nitrite increase and glucose fermentation decreases.
- 6.) Reactivation of ruminal flora by feeding grain showed an almost parallel lapse in reduction time of methylene-blue, resazurin and nitrite. A certain sequence of sensibility of the tests was that glucose fermentation was always the last of the tests, which reached its physiological results.
- 7.) From the breadth of the red or blue zone, arising on the

surface of the samples in resazurin- and methylene-blue test can reduction time be concluded, as far as a zone-breadth of more than 3 mm speaks against the existence of highly active rumen fluid and reduction times more than 3 minutes of the methylene-blue test.

- 8.) Drawing a comparison between methylene-blue test and resazurin test by statistical correlation, a highly significant connection was seen between the results of both tests at active, less active and inactive rumen fluid samples: mean values of resazurin reduction test lapsed twice as fast as methylene-blue time.
- 9.) Comparing reduction times of methylene-blue and nitrite a highly significant correlation between the samples I - III of nitrite test (with 0,2 ml, 0,5 ml and 0,7 ml sodium nitrite) and discolouring time of methylene-blue was observed.
- 10.) Comparing reduction times of methylene-blue and glucose fermentation test there was a highly significant correlation: increase of discolouring time led to decreasing glucose fermentation in a logarithmic function to the discolouring time.
- 11.) At animals with decreased activity and inactivity of the ruminal flora the relations between the results of the reduction tests, and between the arising amount of gas and methylene-blue time were compared by statistical correlation: there were highly significant connections between methylene-blue test, nitrite test and glucose fermentation, but these connections were not the same as with active rumen contents.
- 12.) The results of nitrite test and glucose fermentation test did not always express the same amount of activity of rumen fluid as methylene-blue test. So it is not possible to estimate reduction time of nitrite and the amount of gas in glucose fermentation test from the discolouring time of methylene-blue.

SCHRIFTTUMSVERZEICHNIS

- ABE, M. und F. KUMENO (1973):
In vitro Simulation of Rumen Fermentation:
Apparatus and Effects of Dilution Rate and
Continuous Dialysis on Fermentation and Pro-
tozoal Population.
J. Anim. Sci. 36, 941 - 948
- BACZYNSKY, G. (1957):
Untersuchungen über den Einfluß der Pansenfistel
auf Mikroorganismen und biochemische Reaktionen
im Pansensaft des Rindes.
Vet. Med. Diss. München
- BALDWIN, R.L. und R.S. EMERY (1960):
The Oxydation - Reduction Potential of Rumen
Contents.
J. Dairy Sci. 43, 506 - 511
- BISHOP, E. (1972):
Indicators
Pergamon Press, Oxford, 498 - 534
- BROBERG, G. (1957 a):
Oxygen's Significance for the Ruminal Flora as
Illustrated by Measuring the Redox Potential in
Rumen Contents.
Nord. Vet.-Med. 9, 57 - 60
- BROBERG, G. (1957 b):
Measurements of the Redox Potential in Rumen
Contents. I. In Vitro Measurements on Healthy
Animals.
Nord. Vet.-Med. 9, 918 - 930
- BROBERG, G. (1957 c):
Measurements of the Redox Potential in Rumen Con-
tents. II. In Vitro Measurements on Sick Animals.
Nord. Vet.-Med. 9, 931 - 940
- BROBERG, G. (1957 d):
Measurements of the Redox Potential in Rumen Con-
tents. III. Investigations into the Effect of
Oxygen on the Redox Potential and Quantitative
in Vitro Determinations of the Capacity of Rumen
Contents to Consume Oxygen.
Nord. Vet.-Med. 9, 942 - 950
- BROBERG, G. (1958):
Measurements of the Redox Potential in Rumen Con-
tents. IV. In Vivo Measurements.
Nord. Vet.-Med. 10, 263 - 268

- DIRKSEN, G. (1965):
Über die Pansenazidose des Rindes.
Vet. Med. Nachr. Bayer 65, 79 - 106
- DIRKSEN, G. (1969):
Ist die "Methylenblauprobe" als Schnelltest für
die klinische Pansensaftuntersuchung geeignet?
Dtsch. Tierärztl. Wschr. 76, 305 - 309
- DIRKSEN, G. (1970 a):
Krankheiten des Verdauungsapparates.
In: Rosenberger, G. "Krankheiten des Rindes".
Verlag Paul Parey, Berlin und Hamburg, 173 - 350
- DIRKSEN, G. (1970 b):
Acidosis
Proc. III. Internat. Symp. on Physiol. of Di-
gestion and Metabolism in the Ruminant, Cam-
bridge 1969
Oriel Press, Newcastle upon Tyne 1970, 612 - 625
- DIRKSEN, G. und L. WOLF (1963):
Wie lange und bei welcher Aufbewahrungstemperatur
ist Pansensaft nach der Entnahme für diagnosti-
sche und therapeutische Zwecke brauchbar?
Tierärztl. Umsch. 18, 282 - 285
- DUNLOP, R.H. (1972):
Pathogenesis of Ruminant Lactic Acidosis.
Adv. Vet. Sci. Comp. Med. 16, 259 - 302
- GIESECKE, D. (1973):
Der Vormagen der Wiederkäuer als mikrobieller
Lebensraum.
In: Giesecke, D. und H.K. Henderickx: "Biologie
und Biochemie der mikrobiellen Verdauung".
BLV Verlagsges., München, Bern, Wien, 5 - 57
- HOFIREK, B. (1970):
Die Methodik zur Feststellung der Reduktions-
aktivität mittels Methylenblau, Resazurin und
Thionin beim klinisch gesunden Rind.
Vet. Med.(Praha) 15, 461 - 467
- HOFIREK, B. (1971):
Die Anwendung von TTC zur Ermittlung der Reduk-
tionsaktivität der Pansenflüssigkeit beim kli-
nisch gesunden Rind.
Vet. Med.(Praha) 16, 13 - 18

- HOFIREK, B. (1972):
Diagnostischer Test mit Methylenblau, Resazurin,
Thionin und TTC und seine Ausnutzung bei der
Pansenazidosediagnostik.
Vet. Med. (Praha) 17, 61 - 68
- HOFLUND, S. (1959):
Durch Störungen der Pansenverdauung verursachte
Krankheiten.
Dtsch. Tierärztl. Wschr. 66, 577 - 582
- HOLLEMANN - WIBERG (1976):
Lehrbuch der Anorganischen Chemie. 81.-90. Auflage
Verlag de Gruyter, Berlin und New York, 196 - 220
- HOLTENIUS, P. (1957):
Nitrite Poisoning in Sheep, with special Reference
to the Detoxification of Nitrite in the Rumen.
Acta agric. Scand. 7, 113 - 163
- HOLTENIUS, P. und N. NIELSEN (1957):
On the Occurrence of Nitrate and Nitrite Reducing
Fungi in the Rumen of Sheep.
Nord. Vet.-Med. 9, 210 - 213
- HOLTENIUS, P., G. BJÖRCK und S. HOFLUND (1959):
Die Untersuchung von Pansensaftproben.
Dtsch. Tierärztl. Wschr. 66, 554 - 558
- HÜCKEL, W. (1957):
Theoretische Grundlagen der organischen Chemie.
8. Auflage
Akademische Verlagsgesellschaft, Leipzig, 777-795
- JAGOS, P., B. HOFIREK und P. NSIETE (1973):
Veränderungen der Aktivität der Dehydrogenasen
in der Pansenflüssigkeit bei Acidosis ingestae
ruminis des Rindes.
Vet. Med. (Praha) 18, 1 - 7
- JAGOS, P., B. HOFIREK, J. JURADJOVA und Z. PEROUTKOVA (1973):
Dehydrogenaseaktivität in der Pansenflüssigkeit
gesunder Schafe.
Vet. Med. (Praha) 18, 359 - 363
- JAGOS, P., J. STRIZ, R. KOJAN, Z. DUSEK und A. DYNTR (1973):
Biochemische Kennwerte und Reduktionsaktivität
der Pansenflüssigkeit bei Schafen.
Vet. Med. (Praha) 18, 555 - 560
- JUHASZ, B. und B. SZEGEDI (1968):
Pathogenesis of Rumen Overload in Sheep.
Acta Vet. Acad. Sci. Hung. 18, 63 - 80

- JUHASZ, B. und B. SZEDEDI (1976):
Experimentelle Untersuchungen zur Prophylaxe
und Therapie der Pansenazidose.
Zbl. Vet. Med. A, 23, 485 - 501
- KARLSON, P. (1969):
Biochemie für Mediziner und Naturwissenschaftler.
6. Auflage
Georg Thieme Verlag, Stuttgart, 165 - 178
- KAUFMANN, W. (1959):
Redoxpotentiale im Pansen bei unterschiedlicher
Fütterung.
Kieler Milchw. Forschungsber. 11, 297 - 303
- LAGONI, H. (1951):
Beitrag zum Reduktaseproblem.
Milchwissenschaft 6, 130 - 132, 162 - 164
- LEMBKE, A., W. KAUFMANN und H. LAGONI (1952):
Fermentative Studien an Mikroorganismen. I. Über
die Reduktion von Methylenblau durch Bakterien.
Kieler Milchw. Forschungsber. 4, 361 - 375
- LERCHE, M. (1966):
Lehrbuch der tierärztlichen Milchüberwachung.
Verlag Paul Parey, Berlin und Hamburg, 1 - 211
- LEWIS, D. (1951 a):
The Metabolism of Nitrate and Nitrite in the
Sheep. 1. The Reduction of Nitrate in the Rumen
of Sheep.
Biochem. J. 48, 175 - 180
- LEWIS, D. (1951 b):
The Metabolism of Nitrate and Nitrite in the
Sheep. 2. Hydrogen Donators in Nitrate Reduction
by Rumen Micro-Organisms in Vitro.
Biochem. J. 49, 149 - 153
- MAHLER, D. (1970):
Untersuchungen über die Brauchbarkeit der "Me-
thylenblauprobe" als Schnelltest für die klini-
sche Pansensaftuntersuchung beim Rind.
Vet. Med. Diss. München
- MANSSON, I. und P. ANDERSSON (1956):
The Decomposition of Nitrite by Rumen Bacteria.
Nord. Vet.-Med. 8, 224 - 226
- MARSTON, H.R. (1948):
The Fermentation of Cellulose in Vitro by Organisms
from the Rumen of Sheep.
Biochem. J. 42, 564 - 574

- MISHRA, M., F. MARTZ, R. STANLEY, H. JOHNSON, J. CAMPBELL
und E. HILDERBRAND (1970):
Effect of Diet and ambient Temperature-Humidity
on Ruminal pH, Oxydation-Reduction Potential,
Ammonia and Lactic Acid in Lactating Cows.
J. Anim. Sci. 30, 1023 - 1028
- NEBE, E. (1974):
Kleines Handbuch über die Potentiometrie.
WTW Weilheim
- NETTER, H. (1951):
Biologische Physikochemie
Akad. Verlagsges. Athenaion, Potsdam, 1 - 325
- PAVEL, J. (1969):
Der Einfluß unterschiedlicher Ernährung der
Wiederkäuer auf die Entfaltung einiger Oxydo-
reduktionssysteme im Pansensaft.
Zschr. Tierphys., Tierern. und Futtermittel-
kunde 25, 91 - 99
- PESCH, K.L. und U. SIMMERT (1929):
Untersuchungen über den Frischzustand der Milch.
Bestimmung der Wasserstoffionenkonzentration und
der Reduktionszeit.
Milchwirtsch. Forsch. 8, 568 - 575
- QUASTEL, J., M. STEPHENSON und W. WHETHAM (1925):
Some Reactions of Resting Bacteria in Relation
to Anaerobic Growth.
Biochem. J. 19, 304 - 318
- QUIN, J.I. (1943):
Studies on the Alimentary Tract of Merino Sheep
in South Africa. VII. Fermentation in the Fore-
stomachs of Sheep.
Onderstepoort J. Vet. Sci. 18, 91 - 112
- RAKOW, M. (1975):
Vergleichende Prüfung von verschiedenen Redox-
indikatoren in der klinischen Pansensaftunter-
suchung bei Rind und Schaf.
Vet. Med. Diss. Gießen
- RENNER, E. (1970):
Mathematisch - statistische Methoden in der
praktischen Anwendung.
Verlag Paul Parey, Berlin und Hamburg, 1 - 116
- ROSENBERGER, G. (1977):
Die klinische Untersuchung des Rindes.
Verlag Paul Parey, Berlin und Hamburg, 231 - 241

- SANTOMAURO, A., M. ARAGUNDE und B. BARRIOLA (1968):
Änderung der Technik und Grundlagen des Methylen-
blauteests.
Vet. Med. Nachr. (Bayer) 68, 53 - 60
- SAPIRO, M.L., S. HOFLUND, R. CLARK und J. QUIN (1949):
Studies on the Alimentary Tract of the Merino
Sheep in South Africa. VI. The Fate of Nitrate
in Ruminal Ingesta as Studied in Vitro.
Onderstepoort J. Vet. Sci. 22, 357 - 372
- SMITH, P.H. und R.E. HUNGATE (1958):
Isolation and Charakterisation of Methanobac-
terium Ruminantium.
J. Bact. 75, 713 - 718
- TWIGG, R.S. (1945):
Oxydation - Reduction Aspects of Resazurin.
Nature 155, 401 - 402

Mein besonderer Dank gilt Herrn Prof. Dr. G. Dirksen für die Überlassung des Themas, die Bereitstellung der Versuchstiere und für seine Ratschläge und wertvolle Unterstützung bei der Durchführung der Arbeit.

Bei allen Assistenten und Angestellten der II. Medizinischen Tierklinik bedanke ich mich für die stets freundliche und bereitwillige Hilfe bei meinen Untersuchungen.

LEBENS LAUF

Am 12. 1. 1950 wurde ich als zweites von vier Kindern des Tierarztes Dr. Karl Wenzel und seiner Ehefrau Hilde, geb. Machold, in Pappenheim geboren.

Nach vier Volksschuljahren in meinem Geburtsort besuchte ich bis zum Abitur im Jahre 1969 das mathematisch-naturwissenschaftliche Gymnasium in Weißenburg/Bay. Im Anschluß an meine Wehrdienstzeit begann ich im Wintersemester 1970 mit dem Studium der Veterinärmedizin an der Universität München, das ich mit dem Staatsexamen im Sommersemester 1975 abschloß.

Am 19. 1. 1976 erhielt ich meine Bestallung als Tierarzt. Ab Dezember 1975 war ich Doktorand an der II. Medizinischen Tierklinik der Universität München.

Seit dem 1. 1. 1977 arbeite ich als freier Mitarbeiter in einer Gemischtpraxis in Pappenheim.

